BIOCHIMIE MEDICALĂ

LUCIANA DOBJANSCHI

I. Introducere

Scopul principal al biochimiei de astăzi este să determine cum interacţionează grupele de molecule nevii din organismele vii pentru a constitui, menţine şi perpetua starea vie.

Biochimia este o ştiinţă foarte tânără. Până acum câteva zeci de ani puţine universităţi o recunoşteau ca ştiinţă în toate drepturile ei. Există două izvoare distincte în genealogia biochimiei actuale. Unul provine din medicină şi fiziologie şi este rezultatul unor vechi preocupări de a cunoaşte compoziţia chimică a sângelui, a urinii, şi a ţesuturilor, precum şi modificările acestora în stare normală şi patologică. Celălalt derivă din chimia organică, din vechi studii asupra compuşilor organici naturali. Multă vreme, biochimia a fost privită pur şi simplu, fie ca o ramură a fiziologiei, fie ca o ramură a chimiei. Până la începutul ultimului sfert de secol, ea nu a fost o ştiinţă bine conturată, de sine stătătoare, cu o solidă metodologie experimentală şi cu posibilitatea de aprofundare a fenomenelor biologice.

Două descoperiri mai însemnate au contribuit la schimbarea situaţiei. Una a fost recunoşterea sistemelor multienzimatice ca unităţi catalitice pentru majoritatea căilor metabolice şi dezvoltarea unei ipoteze unitare pentru transferul de energie în celula vie. Cealaltă, a avut o inflenţă mult mai adâncă şi mai puternică, a fost recunoaşterea faptului că ereditatea, unul din aspectele cele mai importante ale biologiei, are o bază reală, moleculară. Biochimia de astăzi face investigaţii spectaculoase într-o serie de ramuri fundamentale ale biologiei – diferenţierea celulelor şi a organismelor, originea vieţii şi evoluţia, comportamentul şi memoria, patologia umană – cercetări ce au demonstrat că aceste probleme fundamentale pot fi eficient abordate prin metode biochimice.

Într-adevăr, succesul biochimiei în explicarea multor procese celulare a fost atât de mare încât mulţi oameni de ştiinţă au ajuns la concluzia că biologia este chimie. Unii biologi nu acceptă acest punct de vedere, ei susţin că esenţa sau caracterul complex al organismelor vii nu poate fi redus, acum şi niciodată, la nivelul moleculelor sau al interacţiilor moleculare. Astăzi este probabil mai logic să presupunem, ca o filozofie curentă, că toate fenomenele biologice au în cele din urmă o bază moleculară şi să abandonăm această idee numai atunci când nu va mai fi utilă pentru proiectarea experimentelor cheie sau pentru explicarea datelor experimentale. Nu trebuie totuşi să privim biologia numai ca pe o ramură a chimiei clasice, cum este chimia organică, chimia fizică sau chimia anorganică. Dacă biologia este chimie, ea este un fel de **suprachimie** care include, dar în acelaşi timp depăşeşte chimia clasică. Aceasta deoarece moleculele din organismele vii nu numai că se supun principiilor fizice şi chimice obişnuite, care guvernează comportarea tuturor moleculelor, dar interacţionează şi între ele conform altui grup de principii pe care îl vom numi **logica moleculară a stării vii**. Aceste principii nu includ în mod necesar forţe sau legi fizice noi, nedescoperite încă. Mai curând ele trebuie privite ca un grup de reguli fundamentale care guvernează natura, funcţia şi interacţiile tipurilor specifice de molecule din organismele vii, proprietăţi ce conferă acestora capacitatea de a se autoorganiza şi autoreplica. Până în prezent nu au fost identificate încă toate principiile cuprinse în logica moleculară a stării vii, iar unele dintre ele sunt vag înţelese. De fapt, este probabil mult mai potrivit să considerăm aceste principii ca axiome, deoarece unele dintre ele sunt intuitive şi nu pot fi demonstrate încă.

Biochimia studiază procesele chimice care condiţionează viaţa şi structurile ce îi corespund. Biochimia apare şi dezvoltă ca ştiinţă de graniţă între chimie şi biologie, fără a se putea realiza însă o demarcaţie netă între cele două.

Începuturile Biochimiei ca ştiinţă datează din sec.XVIII, dar empiric unele procese biochimice se cunosc cu mult timp înainte.

Contibuţii din domeniul chimiei, biologiei şi medicinei se află într-o relaţie de reciprocitate cu dezvoltarea biochimiei. Astfel a apărut biochimia modernă care studiază procesele biochimice care se desfăşoară la nivel celular şi molecular.

În ceea ce priveşte profesia de farmacist, Biochimia este o disciplină indispensabilă, deoarece ea ne oferă bazele moleculare pentru studiul medicamentului în ceea ce priveşte acţiunea principală, efectele secundare, biotransformarea medicamentului şi toxicitatea sa.

Deasemenea în terapie sunt cunoscute un număr mare de produşi biologici cum ar fi:

vitaminele, hormonii, enzimele, aminoacizii, glucidele, compuşii purinici şi pirimidinici precum şi derivaţii lor de sinteză.

Prin inginerie genetică se obţin : hormoni, enzime, anticorpi, inetrferon, antitripsina.

Deci, se poate concluziona că Biochimia studiază totalitatea proceselor biochimice din organism (procese catabolice şi anabolice), precum şi procesele de biotransformare a medicamentelor ajunse în organism.

II. Compoziţia chimică a organismului uman

1. Compoziţia elementară a organismului uman

Au fost identificate un număr de peste 60 de elemente care intră în compoziţia chimică a organismului uman. Acestea au fost clasificate în funcţie de proporţia în care se găsesc în organism. Dintre acestea majoritatea se găsesc în urme. Astfel ele au fost clasificate în: macroelemente, oligoelemente şi microelemente.

Tabelul 1. Repartiţia elementelor în organismul uman.

Element	Procent (%)	Element	Procent (%)
carbon	50	sulf	0,8
oxigen	20	sodiu	0,4
hidrogen	10	clor	0,4
azot	8,5	magneziu	0,1
calciu	4	fier	0,01
fosfor	1	iod	0,00005

Dintre acestea primele patru (C,O,H şi N) reprezintă peste 95% şi sunt considerate macroelemente. Ele sunt principalele bioelemente ale majorităţii biomoleculelor datorită tendinţei lor mărite de a forma legături covalente. Oligoelementele se găsesc în proporţie mai mică în organism şi la fel ca şi macroelementele intră în structura biomoleculelor. Microelementele se găsesc în urme, dar cu toate astea ele au un rol esenţial pentru viaţă.

2. Compoziţia fundamentală a organismului uman

Bioelementele enumerate mai sus se găsesc în organism grupate în categorii de componenţi şi anume: componenţi organici şi componenţi minerali.

Componenţii organici care intră în compoziţia organismului uman sunt: proteinele, glucidele, lipidele şi acizii nucleici. Aceşti compuşi sunt molecule complexe, care sunt alcătuite din molecule simple. Astfel, proteinele se formează prin policondensarea aminoacizilor, glucidele sunt formate din monozaharide, lipidele sunt formate din acizi graşi şi alţi componenţi, iar acizii nucleici sunt formaţi din ribonucleotide şi dezoxiribonucleotide.

Tabelul 2. Principalele biomolecule din organismul uman

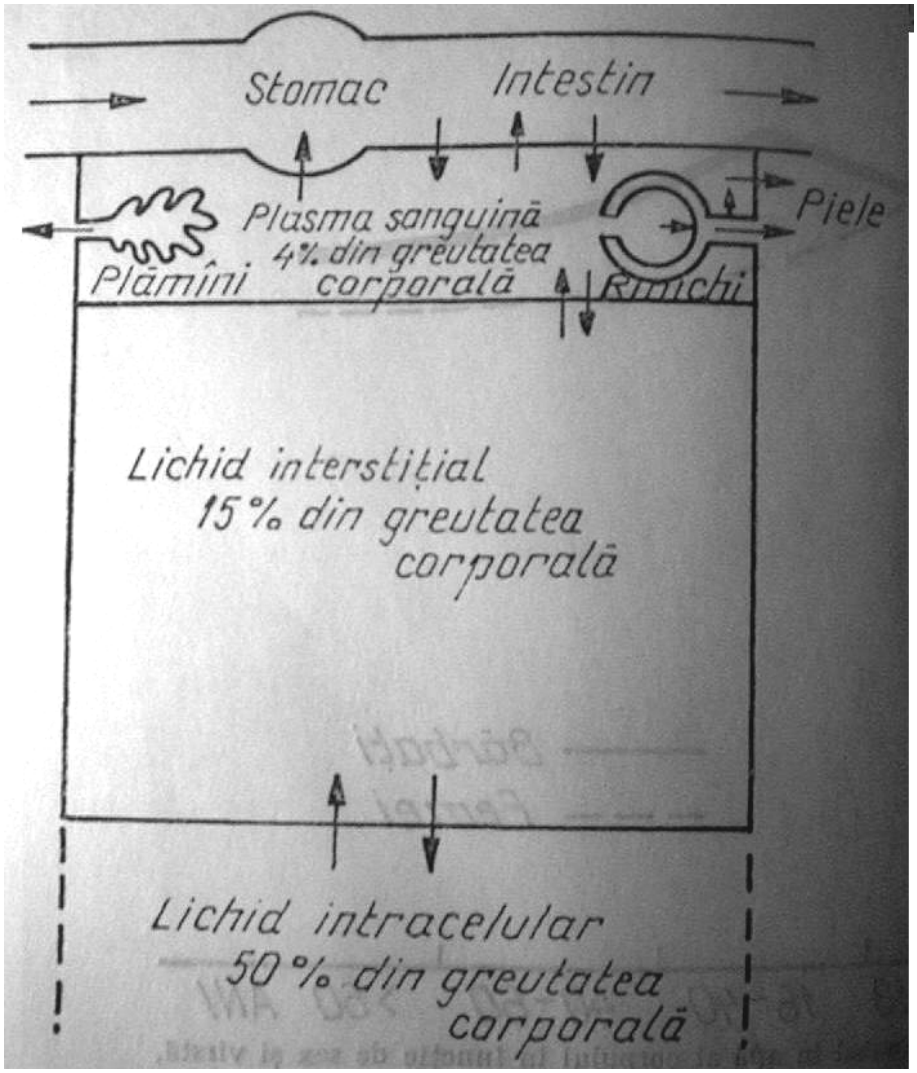
Biomolecula	Unităţi strucurale	Funcţii
ADN	dezoxiribonucleotide	Material genetic
ARN	ribonucleotide	Model pentru sinteza proteinelor
proteine	aminoacizi	Funcţii multiple
glucide	monozaharide	Rezervă de energie
lipide	Acizi graţi şi alţi componenţi	Funcţii multiple

Componenţii minerali prezenţi în organismul uman sunt apa şi electroliţii.

Apa este constituientul major al tuturor organismelor vii. Organismul uman conţine între 58 şi 66% apă. O influenţă remarcabilă asupra conţinutului de apă al organismului o are vârsta. Conţinutul de apă variază şi în funcţie de sex, astfel femeile au un conţinut de apă mai redus în comparaţie cu bărbaţii.

Apa din organism este repartizată în vasele sanguine şi limfatice, spaţiile intercelulare şi celule însăşi. Apa din organism se găseşte repartizată în două compartimente şi anume: compartimentul extracelular, care reprezintă aproximativ 50% din greutatea corpului şi compartimentul intracelular, care reprezintă aproximativ 20% din greutatea corporală.

Figura nr.1



Apa reprezintă mediul ideal al reacţiilor biochimice, vehiculul care asigură transportul şi schimburile metabolice. Apa ocupă cea mai mare parte din organism reprezentând 2/3 (55%-75%) din greutatea corporală.
Cantitatea totală de apă din organism este în funcţie de vârstă, sex, adipozitate precum şi de ţesutul exploatat : ţesutul nervos conţine aproximativ 82-85%, plămânul, cordul, rinichiul 75-80%, osul 30%, iar dintele 10%.
Apa totală liberă este repartizată în două sectoare principale celular şi extracelular.
Apa celulară: se gaseşte în citoplasmă, nucleu, mitocondrii, lizozomi. Ea reprezintă aproximativ 40% din greutatea corporală.
Apa extracelulară: este separată de cea celulară prin membrane celulare, cantitatea ei se determină cu ajutorul unor substanţe care difuzează rapid prin membranele capilare, dar nu prin cele celulare

(manitol, inulină, tiocianat de sodiu). La adult, apa extracelulară reprezintă 20% din greutatea corporală. Ea este depozitată în mai multe compartimente: intravascular, interstiţial, transcelular, şi cel din ţesutul conjunctiv dens cartilaje şi vase.

a) Compartimentul intra vascular: conţine plasma sanguină şi limfa. Acesta reprezintă 5% din greutatea corporală cantitatea lor poate fi determinată fie cu ajutorul unor substanşe colorante (albastru Evans, rosu de Congo) fie cu ajutorul albuminei marcate.

b) Compartimentul interstiţial: reprezintă adevăratul "mediul intern" al organismului. Este vorba de un ultrafiltrat plasmatic, care scaldă celulele, separat de compartimentul intravascular prin membranele capilare. Acestea permit o circulaţie hidroelectrolitică liberă, dar se opun ieşirii proteinelor din vase. Cantitatea de apă din compartimentul interstiţial este dedusă prin scăderea volumului plasmatic din cel extracelular. Se admite ca ea reprezintă 15% din greutatea corporală.

c) Compartimentul transcelular: se referă la lichidul cefalorahidian, la mediile lichidiene oculare şi articulare şi la lichidele din seroase şi toate însumează aproximativ 200 ml sau 1,5 % din greutatea corporală.

În acelaşi compartiment sunt înglobate şi secreţiile glandelor digestive. Acestea, aproximate la un total zilnic de 6-8 l, se resorb aproape complet la nivelul diverselor segmente ale tubului digestiv.

d) Compartimentul hidric din ţesutul conjunctiv dens : (cartilaje şi oase) reprezintă aproximativ 10% din greutatea corporală. Apa acestui compartiment se deplasează lent şi are schimburi foarte reduse cu restul lichidelor organismului.

Aportul de apă

În organism poate avea o proveniență :

Exogenă: din digestia apei ca atare sau sub forma apei conţinute în alimente (aprox 2000ml / 24 ore).

Endogenă: din oxidarea principiilor mediate în cadrul metabolismului intermediar. Astfel din metabolismul
- a 100 g proteine rezultă 46 ml apă
- a 100 g lipide rezultă 107 ml apă
- a 100 g glucide rezultă 55 ml apă.

Există o interdependenţă între cantitatea de apă formată şi cea eliminată.

Eliminarea apei se face pe cale : renală, cutanată, digestivă şi pulmonară.

a) prin perspiraţie insensibilă: (saturarea cu vapori de apă a aerului expirat) se pierd zilnic aproximativ 400 ml apă. Această cantitate este mult depasită în stări patologice însoţite de febră.

b) prin perspiraţie sensibilă: (evaporare transcutanată) se pierd zilnic între 200-500 ml apă. Intensitatea pierderilor prin perspiraţie insensibilă şi sensibilă nu poate fi reglată.

c) prin eliminări hidrice digestive: Sunt minime la omul normal. Prin fecale se elimină aproximativ 150ml / 24 ore.

d) prin eliminări hidrice renale: sunt egale în medie cu 1500 ml / 24 ore (cu variaţii între 700-1700ml / 24 ore. Ele reprezintă elementul reglabil şi cel mai nobil al pierderilor lichidiene. Această eliminare de apă este reglată pe cale hormonală de către hormonul antidiuretic (ADH) şi prin aldosteron.

Electroliţii sunt reprezentaţi de cationi şi anioni. Ei îndeplinesc în organism rol fizico- chimic, structural şi catalitic. Distribuţia cationilor în compartimentele intra şi extracelulare este diferită.

Tabelul 3. Distribuţia cationilor intra- şi extracelular în mEg/l.

Cationi	intracelular	extracelular
Na^{+}	10	145
K^{+}	150	5
Ca^{+2}	2	2
Mg^{+2}	15	2

O clasă diferită de biocompuşi sunt **vitaminele** care sunt indispensabile pentru funcţiile lor biologice, dar pe care organismul nu le poate sintetiza.Ele reprezintă componenţii nutritivi esenţiali.

Hormonii sunt o altă clasă de biomolecule cu rol major în procesele endocrine, care au loc în organism.

II. Nucleotide şi structura covalentă a acizilor nucleici

Acidul dezoxiribonucleic (ADN) şi ribonucleic (ARN) sunt macromolecule tip lanţ, care au funcţia de a depozita şi transmite informaţia genetică. Aceştia sunt componente majore în toate celulele, reprezentând 5-15% din masa uscată a acestora. Acizii nucleici se găsesc şi în virusuri, care sunt complexe infecţioase proteină-acid nucleic, capabile să se autoreplice în celula gazdă.

Deşi denumirea acizilor nucleici vine de la faptul că ADN a fost izolat prima dată din nucleii celulari, ei se găsesc totuşi şi în alte compartimente ale celulei.

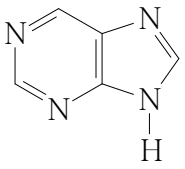
La fel cum aminoacizii sunt elementele constitutive ale proteinelor, aşa nucleotidele sunt componenţii de bază a acizilor nucleici.

Structura generală a nucleotidelor

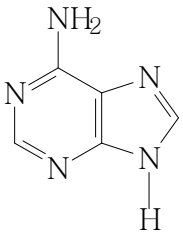
Unităţile monomere ale ADN se numesc dezoxiribonucleotide, iar cele ale ARN se numesc ribonucleotide.

Nucleotidele sunt formate din 3 componente caracteristice şi anume: o bază azotată, o pentoză şi moleculă de acid fosforic.

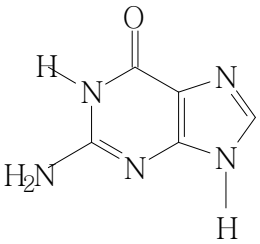
Bazele azotate care intră în structura nucleotidelor sunt de două tipuri: baze purinice şi baze pirimidinice. Bazele purinice prezintă un nucleu de bază numit purina, de la care derivă cele două baze purinice: adenina şi guanina.



Bază purinică

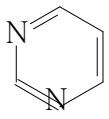


adenina

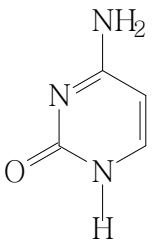


guanina

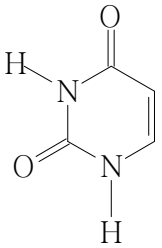
Bazele pirimidinice prezintă un nucleu de bază numit pirimidina, de la care derivă 3 baze pirimidinice, care intă în structura acizilo nucleici, şi anume: citozina, uracilul şi timina.



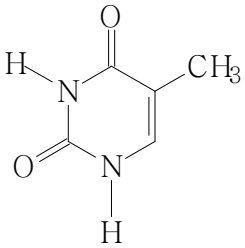
Bază pirimidinică



citozina

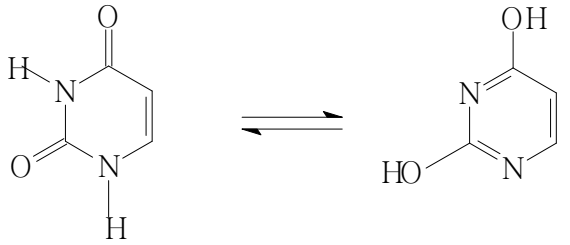


uracilul



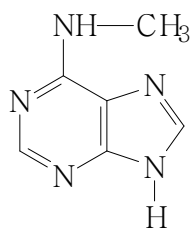
timina

Bazele azotate sunt compuşi slabi bazici, care pot exista în 2 sau mai multe forme tautomere în funcţie de pH. Uracilul, de exemplu, există în formă de lactamă şi lactimă.

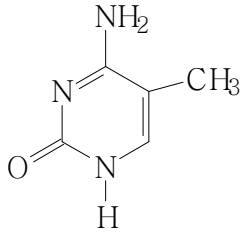


lactam lactimă

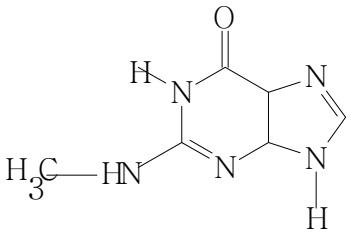
Aceste forme, în special cea lactam, este responsabilă de formarea legăturilor cu celelalte componente din structura nucleotidei.
Pe lângă bazele obişnuite, descrise mai sus, în acizii nucleici se mai găsesc în cantităţi mici şi alte baze, numite baze rare sau minore.



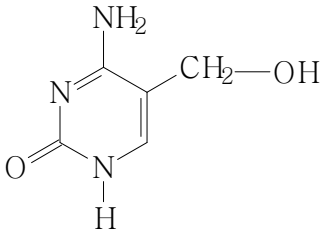
N^6 –metiladenina



5 – metilcitozina

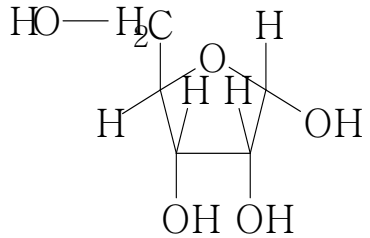


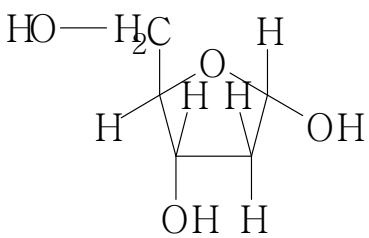
N^3 – metilguanina



5 – hidroximetilcitozina

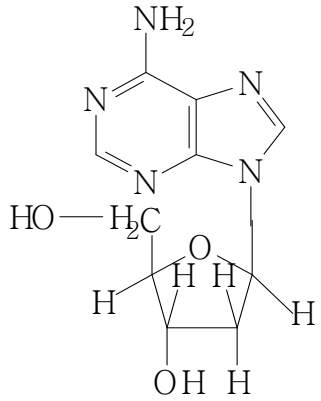
A doua componentă care intră în structura nucleotidei este reprezentată de pentoză. Aceasta poate să fie D - riboza sau 2 – dezoxi –D – riboza.



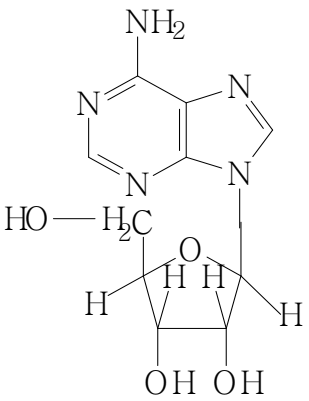


D – riboza 2 – dezoxi – D – riboza

Prin ataşarea unei pentoze la baza azotată rezultă o nucleozidă, care în funcţie de natura pentozei poate să fie ribonucleozid sau dezoxiribonucleozid.

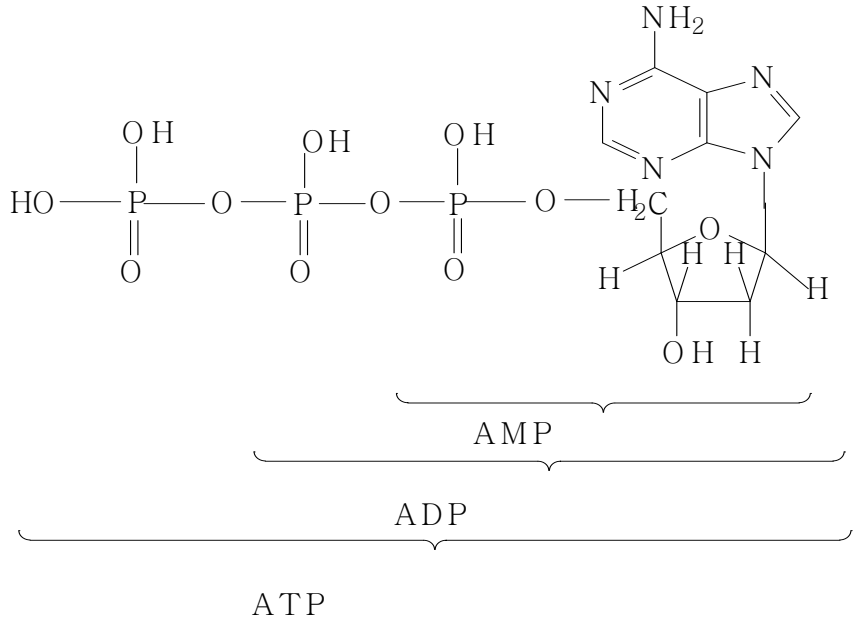


2' – dezoxiadenozina



adenozina

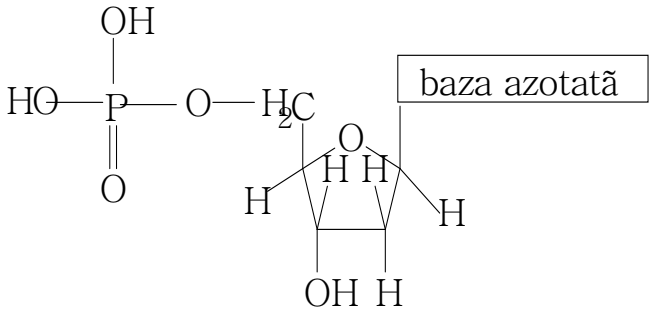
Prin ataşarea unei molecule de acid fosforic la structura unei nucleozide se formează un nucleotid.



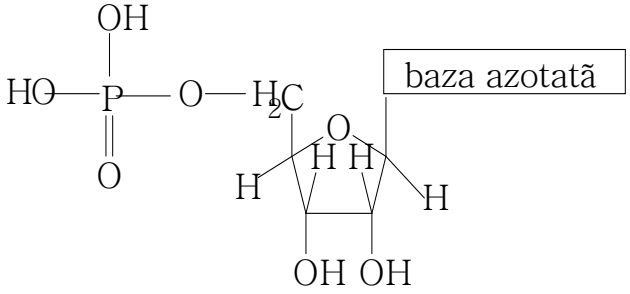
Deci, prin ataşarea unei molecule de acid fosforic la o nucleozidă se formează nucleozid – monofosfatul (NMP), prin ataşarea a 2 molecule de acid fosforic se formează nucleozid – difosfatul (NDP), şi prin ataşarea a 3 molecule de acid fosforic se formează nucleozid – trifosfatul (NTP).

Componentele majore ale ADN sunt 4 dezoxiribonucleotide, care se deosebesc între ele prin baza azotată, care le dă şi numele. Cele 4 baze specifice dezoxiribonucleotidelor din ADN sunt: adenina şi guanina (baze purinice) şi citozina şi timina (baze pirimidinice). Similar, pentru ribonucleotide, care sunt componente fundamentale pentru acizii ribonucletidici (ARN), bazele azotate care intră în compoziţia lor sunt: adenina şi guanina (baze purinice), citozina şi uracilul (baze pirimidinice). Deci, timina se găseşte numai în ADN, nu şi în ARN, iar uracilul se găseşte numai în ARN şi nu şi în ADN. O altă diferenţă între compoziţiile celor două tipuri de acizi nucleici este dată de pentoza din structura nucleotidului:

- dezoxiribonucleotidele conţin: 2 – dezoxi – D – riboza
- ribonucleotidele conţin: D – riboza.



dezoxiribonucleotid



ribonucleotid

Nucleozidtrifosfaţii prezintă o serie de funcţii importante.

ATP este un transportor de grupări fosfat şi pirofosfat în câteva recţii enzimatice implicate în transferal energiei chimice. ADP – ul rezultat prin defosforilarea ATP –ului este refosforilat la ATP în procesul respiraţiei. Sistemul ATP – ADP este sistemul principal pentru transferul grupărilor fosfat în celulă, dar şi ceilalţi nucleozidtrifosfaţi, şi anume: GTP, UTP şi CTP au rolul de a canaliza energia chimică pe anumite biosinteze specifice.

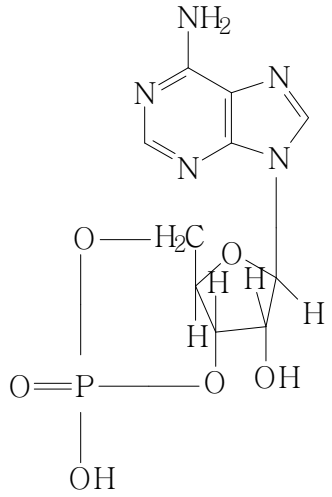
A doua funcţie majoră a NTP şi NDP este cea de transportori de energie, energie pe care o înmagazinează sub formă de legături macroergice. NTP şi d – NTP sunt precursori bogaţi în energie în procesul de biosinteză enzimatică a ADN şi ARN. În acest proces NTP şi d- NTP îşi pierd grupările pirofosfat terminale, transformându –se în resturi de nucleozid monofosfaţi, care sunt elemente constitutive ale acizilor nucleici.

O altă funcţie majoră a NTP şi NDP este cea de transportori energizanţi de tip coenzimă ai anumitor elemente constitutive. De exemplu: UDP este un transportor pentru glucide în procesul de biosinteză a polizaharidelor.

În toate cele 3 funcţii ale NTP şi d – NTP, energia chimică a legăturilor fosfat ß – şi γ – este folosită pentru formarea unor legături covalente noi.

Pe lângă nucleozid 5' – fosfaţii descrişi, în natură mai există şi nucleotide cu grupările fosfat în alte poziţii.

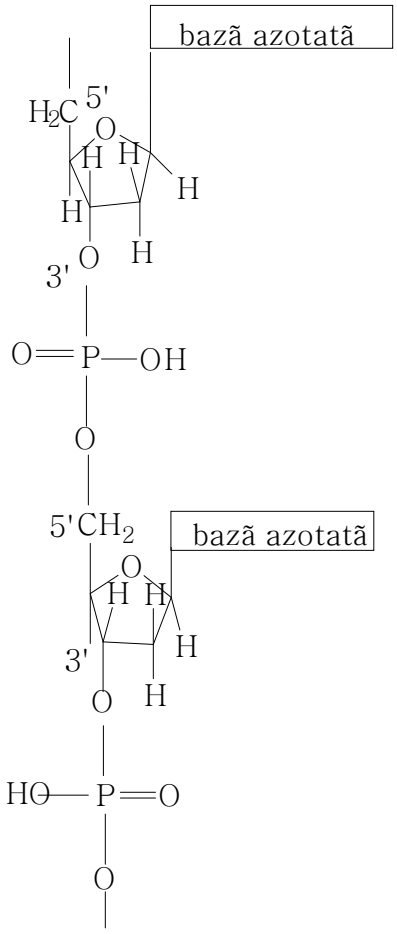
Două nucleotide foarte importante au un rol cheie în acţiunea biochimică a unor hormoni: 3', 5' – ciclic – adenozin fosfatul (AMP ciclic) şi guanozin 3',5' ciclic – fosfatul (GMP ciclic).



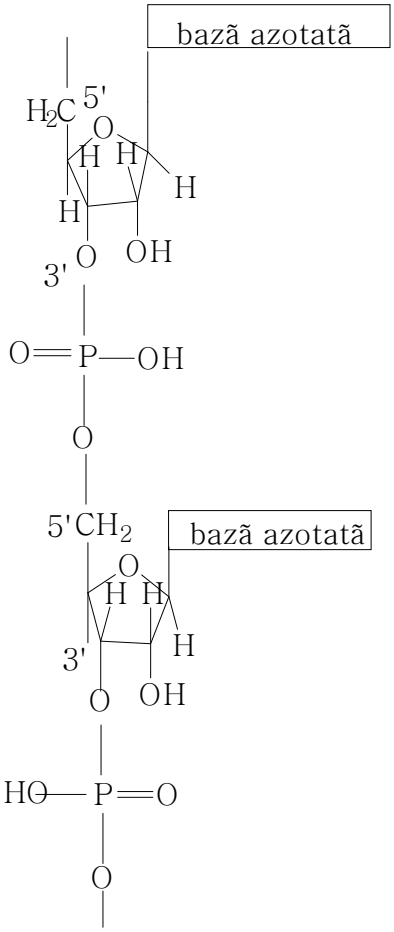
AMPc

AMPc se formează în celulele eucariote, din ATP prin acţiunea unei enzime din membrane celulară, adenilat ciclaza, stimulată de anumiţi hormoni aduşi pe cale sanguină. AMPc mai este denumit şi al doilea mesager, întrucât el transmite şi amplifică în celulă semnalele chimice transmise pe calea sângelui de către hormoni, care sunt primii mesageri.

ADN – ul este format din lanţuri de dezoxiribonucleotide legate covalent, iar ARN – ul este compus din lanţuri de ribonucleotide. Acizii dezoxiribonucleici şi acizii ribonucleici prezintă o serie de proprităţi fizice şi chimice commune, întrucât în ambele molecule, nucleotidele succesive sunt legate covalent prin punţi fosfodiesterice între gruparea 5' – hidroxil a unei nucleotide şi gruparea 3' – hidroxil a următoarei nucleotide.


bazã azotatã
H2C 5'
O
H H
H
H
H
O H
3'
O═P—OH
O
5'CH2
bazã azotatã
O
H H
H
3'
O H
HO— P═O
O

ADN

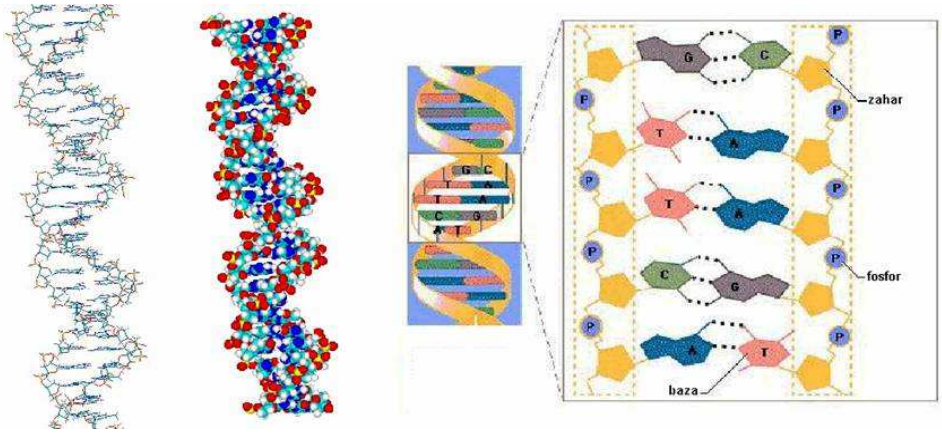


ARN

Astfel catena principală a ADN şi ARN constă în grupări fosforice alternând cu radicali de pentoză, legătura fosfodiesterică asigurând continuitatea covalentă. Bazele purinice şi pirimidinice din unităţile nucleotidice nu fac parte din catena principală, ele formează catene distincte în acelaşi mod în care radicalii R ai aminoacizilor sunt catenele laterale distinctive ale polipeptidelor.

Acidul dezoxiribonucleic (ADN) a fost izolat pentru prima dată din celulele şi sperma de somon de către Friedrich Miesscher (1869). El a denumit produsul izolat nucleină, dată fiind prezenţa lui în nucleii celulari. De atunci au trecut peste 70 de ani de cercetări până la definirea completă a elementelor constitutive şi a structurii catenei principale a acizilor nucleici.

Figura nr.2



Moleculele de ADN din diferite celule şi virusuri se deosebesc prin raportul dintre cele 4 tipuri de monomeri nucleotidici, prin secvenţa nucleotidelor şi prin masa moleculară. Pe lângă cele 4 tipuri de baze majore, în anumite tipuri de ADN, în deosebi de origine virală se găsesc cantităţi mici de derivaţi metilaţi ai acestor baze. Acizii dezoxiribonucleici izolaţi din diferite organisme şi virusuri au două lanţuri dispuse într-un aranjament complementar dublu elicoidal. În majoritatea celulelor moleculele de ADN sunt atât de mari, încât este greu să le izolăm sub formă intactă. În celulele procariote, care conţin un singur cromozom, întreaga cantitate de ADN este prezentă ca unică macromoleculă, o singură elice dublă, cu masa moleculară de peste 2 x 10^9. În celulele eucariote, ce conţin mai mulţi cromozomi, există mai multe molecule de ADN. În bacterii, molecula de ADN care reprezintă 1% din greutatea celulei se află zona nucleară; de obicei ea este ataşată printr-un singur punct de un pliu al membranei celulare, numit mezozom. Uneori, în citoplasma celulelor bacteriene se găsesc molecule mici de ADN extramitocondrial; aceste molecule de ADN, care poartă doar câteva gene, se numesc plasmide sau epizomi, în funcţie de relaţia lor genetică cu ADN -ul cromozomial.

În celulele eucariote diploide, aproape întreaga cantitate de ADN se găseşte în nucleu, combinată prin legături ionice cu proteine bazice, numite histone. Pe lângă
ADN –ul din nucleu în celulele eucariote diploide mai găsim cantităţi foarte mici de ADN în mitocondrii, care diferă de ADN –ul nuclear prin bazele conţinute şi prin masa moleculară.

Acizii ribonucleici

Cele 3 tipuri majore de acizi ribonucleici din celule sunt: ARNm, ARNr şi ARNt. Toate cele 3 tipuri de ARN sunt lanţuri monocatenare poliribonucleotidice, dar se deosebesc între ele prin domenii caracteristice de mase moleculare şi de coeficienţi de sedimentare. Fiecare dintre cele 3 tipuri majore de ARN există în forme moleculare multiple. ARNr există în cel puţin 3 forme majore, ARNt există în 60 de forme, iar ARNm există în sute şi poate mii de forme distincte. Majoritatea celulelor conţin de 2- 8 ori mai mult ARN decât ADN.

În celulele bacteriene, cea mai mare parte a ARN se află în citoplasmă, dar o anumită cantitate este ataşată necovalent de ADN, pe măsură ce se formează în procesul de transcripţie. În celulele eucariote diferitele forme de ARN au o distribuţie intracelulară distinctă.

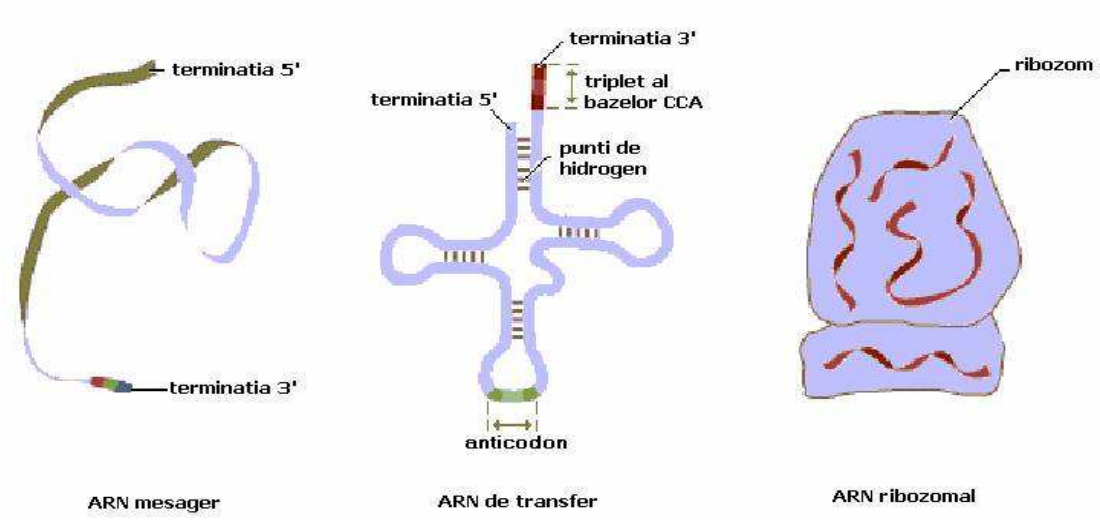


Figura nr.3

ARNm conţine doar cele 4 baze majore. El se sintetizează în nucleu în procesul de transcripţie, prin care secvenţa bazelor dintr-un lanţ de ADN cromozomial este copiată enzimatic în lanţul de ARNm. O anumită cantitate de ARNm se sintetizează şi în mitocondrii. Secvenţa bazelor din lanţul de ARNm este complementară celei din lanţul de ADN ce se transcrie. După transcripţie, ARNm trece în citoplasmă şi apoi la ribozomi, unde serveşte ca matriţă pentru ordonarea secvenţială a aminoacizilor în procesul de biosinteză a proteinelor. ARN –ul mitocondrial reprezintă doar o mică parte din ARN –ul total din celulă, dar el se află în foarte multe forme distincte, care se deosebesc prin masa moleculară şi secvenţa bazelor azotate. Fiecare din miile de proteine diferite sintetizate în celula este codificată de către un ARNm.

ARNm din celulele eucariote se caracterizează prin prezenţa la capătul 3' terminal a unei secvenţe lungi de cca 200 de radicali adenilici, care pare să aibă un rol în prelucrarea sau transportul ARNm de la nucleu la ribozomi.

ARNt sunt molecule relativ mici, care funcţionează ca transportori specifici ai câte unei molecule de aminoacizi în procesul de biosinteză a proteinelor pe ribozomi. Ei au o masă moleculară de 23000 – 28000 şi un coeficient de sedimentare de 4S. Ei conţin 75 – 90 de nucleotide. Fiecare dintre cei 20 de aminoacizi din proteine are cel puţin un ARNt coerspunzător, iar unii au chiar mai mulţi ARNt.

De exemplu: în celulele de Escherichia coli există 5 ARNt diferiţi pentru transferul leucinei.

Mai mult, în celulele eucariote unui anumit aminoacid îi corespund ARNt mitocondriali diferiţi de ARNt citoplasmatici. Moleculele de ARNt prezintă câteva trăsături comune. Toate tipurile de ARNt au la un capăt al lanţului polinucleotidic un acid guanilic terminal, iar la celălalt capăt secvenţa terminală citidil – citidil – adenil (CCA). Gruparea 5' –hidroxil a acidului adenilic terminal este legată de gruparea 3' –hidroxil a acidului citidilic precedent print-o punte fosfodiesterică. Gruparea hidroxil liberă din acidul adenilic terminal este acilată enzimatic cu α-aminoacidul specific, formând aminoacil –ARNt. Acest aminoacid este transferat enzimatic la capătul lanţului polipeptidic în curs de formare pe suprafaţa ribozomilor, în procesul de biosinteză proteică.

ARNr reprezintă 65% din masa ribozomilor. El se poate obţine din ribozomii de E.coli ca molecule lineare, monocatenare, prezente în 3 forme caracteristice, cu coeficienţii de sedimentare de 23S, 16S şi respectiv 5S. Aceste 3 forme se deosebesc prin secvenţa şi raportul bazelor. În celulele eucariote, care au ribozomi mai mari decât celulele procariote, există 4 tipuri de ARNr: 5S, 7S, 18S şi 28S. Deşi ARNr reprezintă o mare parte din ARN celular total, funcţia lui în ribozomi nu este încă, bine elucidată.

Sinteza proteinelor

Procesul de sinteză proteică constă în polimerizarea aminoacizilor, în celule sau în vitro. Într-o celulă pot exista circa 10000 proteine care au rol esenţial în funcţionarea şi reproducerea celulei şi organismului. Biosinteza proteinelor se desfăşoară în următoarele momente. *În primul moment* are loc *transcriptia*, care constă în sinteza mARN de către una dintre catenele de ADN dintr-o genă. Acest mARN are o structură complementară catenei de ADN matrice, reprezentând o "imagine în oglindă" a acestuia, o transcriere mecanică a codonilor catenei de ADN, respectiv a mesajului genetic, cu simboluri complementare. *În al doilea moment* are loc *translaţia* care constă în migrarea mARN în citoplasma şi asocierea mARN cu ribozomii activi în sinteza proteică. Catena de mARN se fixează simultan prin absorbţie pe mai mulţi ribozomi la distanţa între ei de 300-350A, formând poliribozomi. *În al treilea moment* are loc *activarea aminoacizilor*, care constă în reacţia unui aminoacid cu adenozin-trifosfat (ATP) catalizată de *aminoacil-ARN sinteza*, şi formarea de aminoacil-adenilat (aminoacil AMP), care se ataşează de o moleculă de tARN, determinând apariţia unui complex *aminoacil-tARN*. Acest complex este transportat în locul lui propriu în lanţul proteic, determinat de mARN din polizomi. Pe catena mARN din polizom, se vor amplasa, la nivelul fiecărui ribozom, numai acele complexe aminoacil-tARN care, pe bucla centrală, reprezentând anticodonul, posedă o secvenţă de trei ribonucleotizi complementară

codonilor mARN din complexul polizomului. În acest fel aminoacizii sunt legaţi enzimatic într-o ordine impusă de ADN care a matriţat mARN şi care joacă un rol direct în biosinteza proteinelor. *În al patrulea moment* are loc *translaţa, polimerizarea* sau *asamblarea aminoacizilor*. Legătura se realizează între gruparea COOH a primului aminoacil care reprezintă punctul activ al biosintezei progresive, cu gruparea NH_2, a celui de al doilea aminoacil, în prezenţa enzimei *peptid-polimeraza,* care catalizeaza formarea legaturilor peptidice între aminoacizi; încorporarea aminoacizilor este ireversibilă; iau astfel naştere lanţuri polipeptidice care se eliberează de polizom, prin translocarea ultimului complex aminoacil-tARN de ultimul ribozom din polizom, când acesta a ajuns în urma rotirii la extremitatea matricei mARN de care se detasează. Un lant polipeptidic se sintetizează într-un minut.

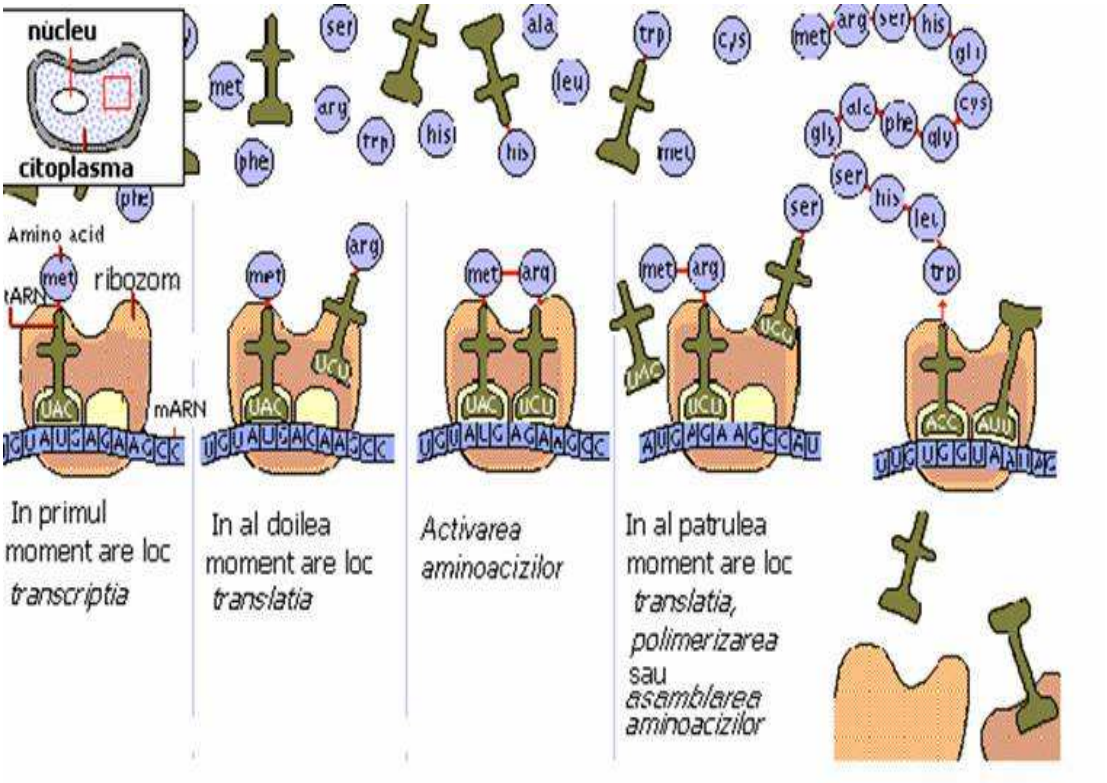


Figura nr.4

Complexe supramoleculare acizi nucleici - proteine

Unii acizi nucleici se află în celule asociaţi necovalent cu proteine specifice, formând complexe supramoleculare. Dintre aceste sisteme acid nucleic – proteine, cu structuri şi funcţii biologice foarte complexe; ribozomii şi virusurile sunt cele mai cunoscute. Cele mai complexe sisteme acid nucleic – proteină sunt probabil cromozomii din celulele eucariote.

Ribozomii sunt particule ribonucleoproteice care se găsesc în toate tipurile de celule. Ei sunt esenţiali în biosinteza proteinelor.

Virusurile sunt structuri subcelulare la limită între lumea biotică şi abiotică. Virusurile au capacitatea de a se antagoniza atunci când intră într-o celulă gazdă specifică.

Implicaţiile medicaleale nucleotidelor

Unele nucleotide naturale, precum şi derivaţii lor obţinuţi prin sinteză pot fi utilizate în terapie, fiind utilizate în: chimioterapia bolii maligne, tratamentul hiperuricemiei şi gutei, în afecţiuni virale, în hipertiroidism sau ca agenţi imunosupresori, hipogliceminaţi, antifungici şi antiparazitari.

Mecanismul lor de acţiune este variat:

- înhibă enzimele implicate în biosinteza acizilor nucleici, blocând procesul
- înhibă enzimele care catalizează conversia xantinei în acid uric.

III. Proteine

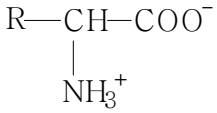
Proteinele sunt compuşi macromoleculari, respectiv biopolimeri rezultaţi din policondensarea aminoacizilor legaţi între ei prin legături peptidice. Diferenţa între proteine şi polipeptide se face pe baza dimensiunii moleculare, limita de delimitare fiind stabilită arbitrar la o greutate moleculară de 8 x 10 Kd. Lanţurile de peptide alcătuite din sub 10 resturi de aminoacizi se numesc oligopeptide, iar cele de până la 50 – 60 de resturi de aminoacizi se numesc polipeptide. Proteinele sunt formate din sute de resturi de aminoacizi, iar masa lor moleculară poate urca la sute de mii de daltoni.

Aminoacizii

Aminoacizii sunt unităţile structurale de bază din molecula proteinelor. Aminoacizii conţin două grupări funcţionale comune tuturor aminoacizilor: o grupare aminică şi o grupare carboxilică. Capacitatea unui aminoacid de a se condensa cu alţi aminoacizi pentru a forma peptide este dependentă de proprităţile chimice ale acestor două grupări funcţionale. Cea mai importantă proprietate a aminoacizilor este aceea de a servi ca subunităţi monomerice pentru proteine, dar ei prezintă şi alte roluri importante pentru celulă. De exemplu, glutationul este o tripeptidă cu funcţii importante, alte peptide mici au funcţii de hormoni, sau în unele organisme au rol de antibiotice. Acidul glutamic are rol de neuro –transmiţător. Aminoacizii sunt precursorii unei varităţi de biomolecule (de exemplu: hitidina pentru histamină). Unii aminacizi sunt metabolizaţi şi utilizaţi pentru producerea de glucoză (gluconeogeneză). Deoarece nu există rezerve de aminoacizi, cu excepţia celor implicaţi în structura proteinelor, atunci când gluconeogeneza are nevoie de aminoacizi, aceştia sunt eliberaţi prin decompunerea proteinelor.

Structura aminoacizilor

În proteinele tuturor speciilor procariote şi eucariote a fost identificat un set de cca 20 de aminoacizi, marea majoritate aprţinând seriei sterice L. Toţi aminoacizii, cu excepţia prolinei, prezintă aceeaşi strucutură generală în sensul că atomul de carbon α- este legat de o grupare –COOH, de una $–NH_2$ şi de un rest R răspunzător de proprietăţile diferite ale diferiţilor aminoacizi.
Formula generală a unui aminoacid:

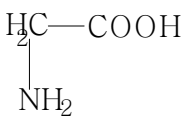


În toţi α- aminoacizii, cu excepţia glicinei, carbonul α este optic activ. Izomerii posibili aparţin seriei D sau L. S-a constatat că toţi izomerii existenţi în mod natural în constituţia proteinelor aparţin seriei sterice L. Sarcinile apărute în formulele aminoacizilor sunt cele care apar la pH 6-7. Ca urmare, la pH 6-7, un aminoacid poate să aibă caracter acid sau bazic.

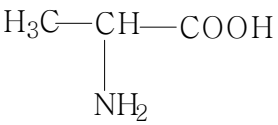
Clasificare aminoacizilor

Din punct de vedere structural aminoacizii se pot clasifica astfel:

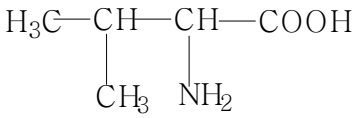
- aminoacizi alifatici



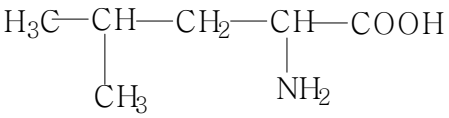
glicina (glicocol, Gly)



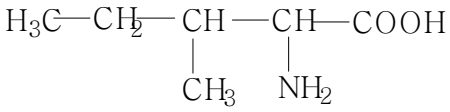
alanina (Ala)



valina (val)

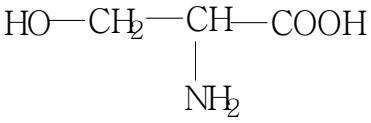


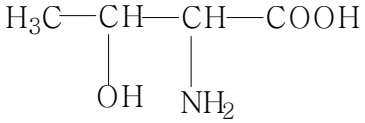
leucina (leu)



Izoleucina (ile)

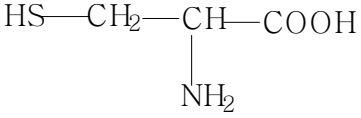
- aminoacizi hidroxilaţi

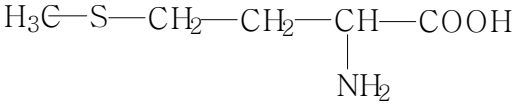




serina (ser) treonina (thr)

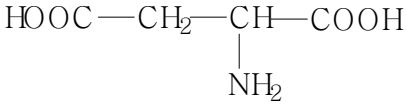
- aminoacizi cu sulf



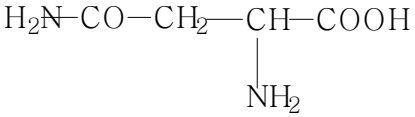


cisteina (cys) metionina (met)

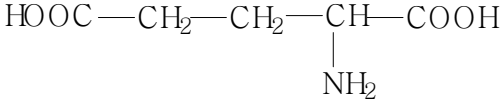
- aminoacizii dicarboxilici şi amidele lor



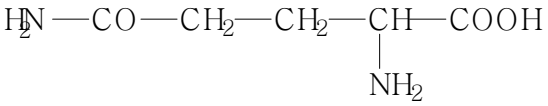
acidaspartic(asp)



asparagina (asn)

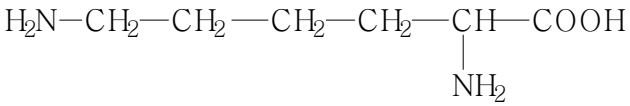


acid glutamic (glu)

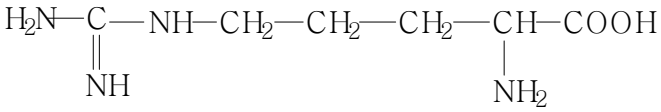


glutamina (gln)

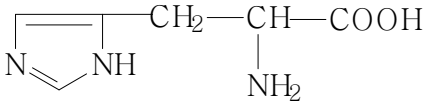
- aminoacizi cu două grupări bazice



lisina (lys)

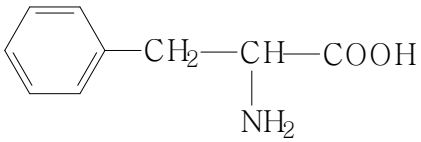


arginina (arg)

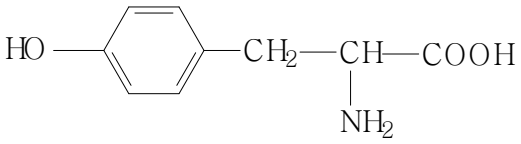


histidina (his)

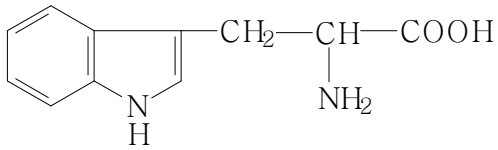
- aminoacizi aromatici



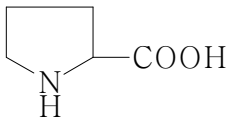
fenilalanina (phe)



tirozina (tyr)



triptofan (trp)



prolina (pro)

În funcţie de polaritatea radicalului, aminoacizii se clasifică, astfel:

- aminoacizi neutri: Gly,Ala, Ser, Cys, Thr, Asn, Gln – care au radicalul polar, dar lipsit de sarcină electrică la pH=7.
- aminoacizi hidrofili, cu caracter acid: Asp, Glu, Tyr – care sunt aminoacizi încărcaţi negative la pH fiziologic.
- aminoacizi hidrofili cu caracter bazic: Arg, Lys, His – aminoacizi care la pH fiziologic sunt

încărcaţi cu sarcină pozitivă.

- aminoacizi hidrofobi: Val, Leu, Ile, Met, Pro, Phe, Trp.

Există proteine care pe lângă aceşti 20 de aminoacizi esenţiali sau de bază, conţin şi alţi aminoacizi. Aceştia pot să ia naştere prin modificări ulterioare sintezei lanţului polipeptidic, determinând astfel caracteristici noi ale activităţii biologice.

Exemplu:

- acetilarea capătului N-terminal, creşte rezistenţa la degradare
- prin hidroxilarea resturilor de prolină şi lizină se formrează: hidroxiprolina şi hidroxilizina, cu rol în stabilizarea fibrei de colagen
- γ – carboxiglutamatul are legătură cu acţiunea vitaminei K
- fosforilarea resturilor de: Ser, Thr, Tzr, se foloseşte ca mecanism de reglare a multor procese celulare.
    - Alţi aminoacizi modificaţi se întâlnesc în structura unor peptide biologic active. Pe lângă aminoacizii prezenţi în proteine, există aminoacizi, care liberi sau în combinaţii îndeplinesc funcţii importante în metabolism.

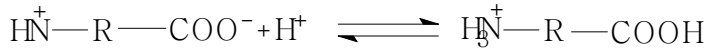
De exemplu:

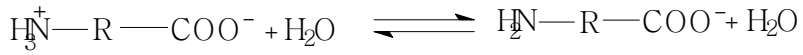
- β – alanina, din stuctura coenzimei A şi a unor peptide
- homoserina şi homocisteina sunt intermediari metabolici
- citrulina şi ornitina apar în biosinteza ureei
- acidul γ- aminobutiric (GABA) este un mediator chimic nervos
- 3,4 – dioxifenilalanina (DOPA) este precursor al adrenalinei
- acidul p- aminobenzoic intră în structura acidului folic.

Proprietăţile aminoacizilor

Aminoacizii sunt substanţe solide, cristaline şi au puncte de topire sau de descompunere peste 200^0C. Ei sunt mult mai solubili în apă decât în solvenţi nepolari. În reţeaua cristalină, moleculele de aminoacizi sunt atrase prin forţe electrostatice. Dacă aminoacizii ar cristaliza într-o formă neionică, datorită atracţiei Van der Waals, atunci ar avea puncte de topire mult mai scăzute. Toate acestea duc la concluzia că aminoacizii se găsesc în soluţii apoase şi în reţeaua cristalină sub formă de ioni dipolari sau amfioni.

Datorită caracterului lor amfoter, aminoacizii formează săruri atât cu acizii cât şi cu bazele.



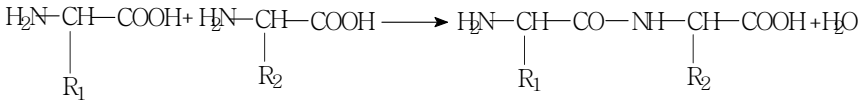


Deci, în mediu acid, aminoacizii se comportă ca baze, iar în mediu bazic se comportă ca acizi.

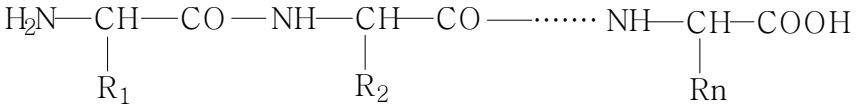
Datorită faptului că aminoacizii posedă grupări carboxilice şi grupări bazice, ei prezintă proprietăţi datorate grupărilor carboxil şi proprietăţi datorate grupării aminice precum şi proprietăţi determinate de ambele grupări.

PEPTIDE

Cea mai importantă proprietate a aminoacizilor, este aceea de condensare, care duce la formarea de peptide. Peptidele se formează prin eliminarea unei molecule de apă între gruparea carboxil a unui aminoacid şi gruparea aminică a unui alt aminoacid.

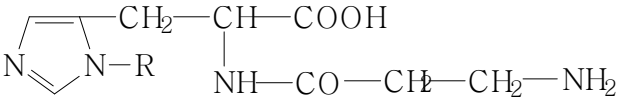


Prin convenţie, un lanţ polipeptidic se scrie începând cu extremitatea ce are gruparea aminică liberă, numită capăt N- terminal şi se încheie cu capătul C –terminal, reprezentat de gruparea carboxilică a ultimului aminoacid.



În unele cazuri aceste capete sunt derivatizate. Oligopeptidele se clasifică în di-, tri-, tetra- până la decapeptide, în funcţie de numărul de resturi de aminoacizi prezenţi în structura peptidei.
Ca exemple de peptide cu rol biologic cunoscut amintim:

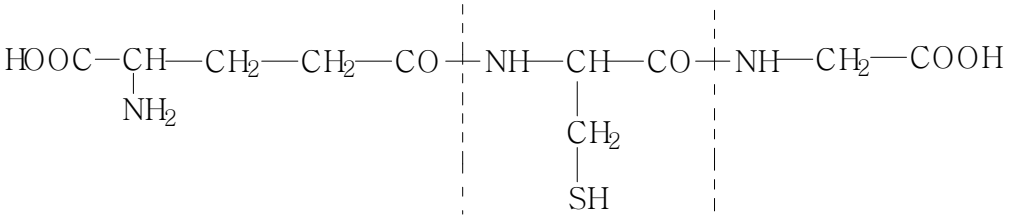
- Dipeptidele: carnozina şi anserina, cu rol în metabolismul muscular.



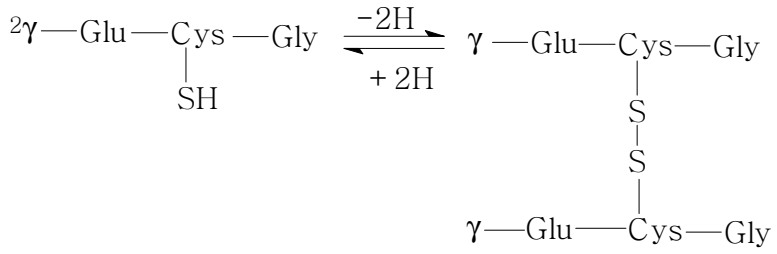
R = H carnozina
= CH_3 anserina

- Tripeptide.

Glutationul este o tripeptidă formată acid glutamic, cisteină şi glicină, motiv pentru care se numeşte şi γ- glutamil-cisteinil-glicină.



Glutationul se întâlneşte în celulele animale, unde se găseşte în concentraţie ridicată. El funcţionează ca un sistem redox şi serveşte în transportul intercelular de aminoacizi.

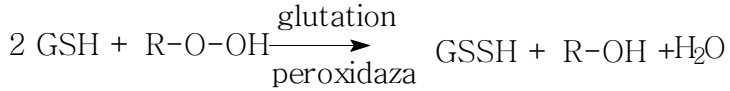


(GSH) (GSSH)

glutation redus glutation oxidat

Interconversiunea formelor reduse şi oxidate are loc sub acţiunea unor enzime şi serveşte în biosinteza eicosanoizilor, a dezoxiribonucleotidelor, în biotransformarea insulinei circulante, precum şi în alte procese.

Deoarece glutationul redus protejează grupările tiol ale proteinelor, el este esenţial pentru integritatea eritrocitului şi deasemeni pentru menţinerea Fe din hemoglobină în stare bivalentă. Mecanismul implicat priveşte neutralizarea potenţialului agresiv al peroxizilor rezultaţi în metabolismul aerob.

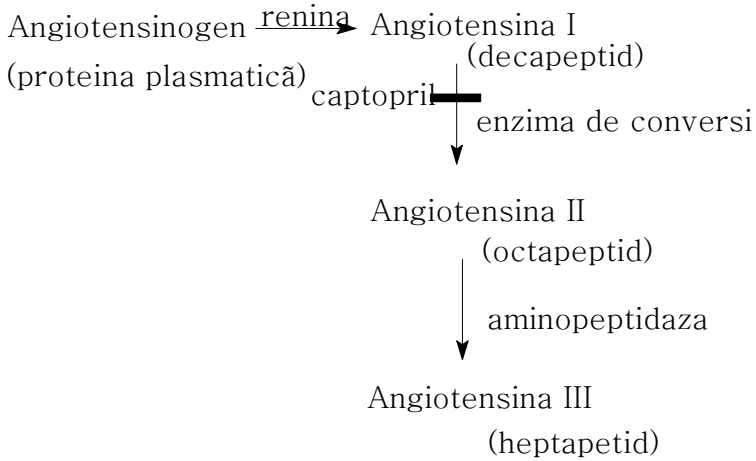


Formarea unor astfel de peroxizi este favorizată de un număr de medicamente, la care pot să apară ca efecte adverse anemia hemolitică şi methemoglobinemia.

O altă tripeptidă este hormonul de eliberare a tirotropine (TRH) de origine hipotalamică, care are ambele capete derivatizate. TRH se mai numeşte: piroglutamil- histidil- prolinamida. Glutamatul N-terminal apare ciclizat sub forma acidului piroglutamic, iar capătul C –terminal este reprezentat de prolinamidă.

Există două grupe de oligopeptide formate din 7- 10 resturi de aminoacizi cu acţiune asupra musculaturii netede, care rezultă din hidroliza enzimatică a unor proteine plasmatice.

Angiotensinele provin din angiotensigen, o proteină formată din cca. 400 de aminoacizi.



Angiotensinele acţionează asupra vaselor, mai intens pe artere stimulând secreţia de aldosteron şi eliberarea de prostaglandine. Angiotensina II este socotită cel mai puternic agent presor present în circulaţia generală. Aceasta pare a fi implicată în patogeneza hipertensiunii arteriale esenţiale, deşi sunt cazuri cu activitate reninică normală sau chiar scăzută. Inhibitorii

sistemului renină- angiotensină, în care rolul central îl are enzima de conversie, se utilizează în tratamentul hipertensiunii arteriale: de exemplu captoprilul.

Un alt grup de polipetide este reprezentat de kininele plasmatice, formate din kininogeni sub acţiunea enzimelor numite kalikreine.

Plasmakininele, considerate şi hormoni locali, produc vasodilataţie arterială (efect hipotensor), dar determină contracţia vaselor, musculaturii uterine, a intestinului şi bronhoconstricţie.

Alte oligopeptide cu activitate biologică sunt encefalinele şi hormonii neurohipofizari.

Un alt exemplu de polipeptide naturale este reprezentat de vasopresină şi oxitocină, care sunt peptide ciclice alcătuite numai din aminoacizi. Aceste două polipeptide au o structură foarte apropiată, fiind alcătuite din 9 resturi de aminoacizi, dar prezintă funcţii fiziologice diferite. Vasopresina are efect antidiuretic, iar oxitocina acţionează asupra musculaturii netede a uterului, producând contracţia uterului. Oxitocina stimulează şi contracţia musculaturii din jurul alveolelor mamare, determinând astfel eliminarea laptelui din canalele glandei mamare, având acţiune lactagogă.

PROTEINE

Proteinele şi funcţiile lor biologice.

Proteinele sunt cele mai răspândite molecule organice din celulă. Masa moleculară a proteinelor este foarte mare, dar prin hidroliză acidă toate se transformă în compuşi organici simpli, şi anume L-aminoacizi.

Proteinele se împart, în funcţie de compoziţia lor în două clase principale:

- proteine simple
- proteine conjugate

Proteinele simple sunt acelea care prin hidroliză formează numai aminoacizi şi nici un alt compus organic sau anorganic.

Proteinele conjugate sunt acelea care prin hidroliză pun în libertate pe lângă aminoacizi şi alţi compuşi organici sau anorganici.

Partea conjugată a proteinei, care nu este aminoacid se numeşte grupare prostetică. În funcţie de natura grupării prostetice, proteinele conjugate se împart în:

Tipul proteinei	**Gruparea prostetică**	**Locul în care se găsesc**
- nucleoproteine	acizi nucleici: - ADN	ribozomi
	- ARN	virusul mozaicului tutunului
- lipoproteine	fosfolipide	β– lipoproteinele plasmatice
		lipide membranare
- glicoproteine	glucide: - hexozamine	γ – globuline
	- galactoză	
	- manoza	
	- acid sialic	
- fosfoproteine	fosfaţi esterificaţi cu radicali ai sernei	cazeina
- hemoproteine	hem	hemoglobina
		citocromul C
- flavoproteine	FAD	succinat dehidrogenaza
- metaloproteine	metale	feritina

Masa moleculară a proteinelor se poate determina prin metode fizice şi poate fi cuprinsă între 5000 şi câteva milioane.

Exemplu:

- insulina: greutatea moleculară de 5700 daltoni
- virusul mozaicului tutunului: greutatea moleculară de 40000000 de daltoni.

<u>Diversitatea funcţională a proteinelor</u>

Proteinele îndeplinesc în organism multiple funcţii, dintre care amintim următoarele:

1. Enzimele sunt proteine ce catalizează diverse reacţii biochimice.

Exemplu: hexokinaza, lactat dehidrogenaza

2. Proteinele de rezervă

Exemplu:

- ovalbumina – proteina din albuşul de ou
- cazeina – proteina din lapte
- feritina – proteina de depozitare a Fe în splină
- zeina – proteina din seminţe de porumb
- gliadina – proteina din grâu

3. Proteine de transport

Exemplu:

- hemoglobina – proteina ce transportă oxigenul în sîngele vertebratelor
- hemocianina – proteina ce transportă oxigenul din sîngele nevertebratelor
- mioglobina – proteina ce transportă oxigenul în celulele musculare
- albumina serică – proteina ce transportă acizii graşi în sânge
- β1-lipoproteina – proteina ce transportă lipidele în sânge
- ceruloplasmina – proteina ce transportă cuprul în sânge

Aceste proteine sunt capabile să lege şi să transporte pe calea sângelui anumite tipuri de molecule.

4. Proteinele contractile sunt proteine cu rol esenţial în fenomenul de contracţie şi în mişcare.

Exemplu:
- actina – filamentele subţiri din miofibrile
- miozina – filamentele groase din miofibrile
- dineina – proteinele din cili şi flageli.

În muşchi, actina şi miozina sunt aşezate în şiruri paralele, alunecând unele pe lângă altele în timpul contracţiei.

5. Proteinele cu rol de protecţie în sângele vertebratelor

Exemplu:
- anticorpii formează complecşi cu proteinele străine
- sistemul complement formează complexe cu anumite sisteme antigen-anticorp.
- Fibrinogenul – precursor al fibrinei în coagularea sângelui
- Trombina – participă la procesul de coagulare.

Unele proteine au rol de apărare sau de protecţie.

Proteinele sanguine (trombina şi fibrinogenul) participă la coagularea sângelui oprind astfel pierderile de sânge în sistemul vascular al vertebratelor.

Cele mai importante proteine cu rol de apărare a organismului sunt anticorpii sau globulinele imune, care se combină cu proteinele străine sau cu alte substanţe străine intrate întâmplător în organism, neutralizându-le.

6. Toxinele

Exemplu:
- toxina din Clostridium botulinum
- toxina difteriei
- veninul de şarpe
- ricinul
- gossipina

Toxinele sunt substanţe foarte toxice pentru organismul animalelor superioare, chiar şi în cantităţi foarte mici.

7. Hormoni

Există proteine care funcţionează ca şi hormoni.

Exemplu:
- insulina este secretată de anumite celule specializate din pancreas şi reglează metabolismul glucozei.
- Hormonul adrenocorticotrop: hormonul de ceştere sau somatotropina este un hormon al glandei hipofizare anterioare, care reglează sinteza corticosteroizilor.

8. Proteinele structurale

Există o clasă de proteine care servesc ca şi elemente structurale.

Exemplu:
- proteinele din învelişul viral
- glicoproteinele
- α- keratina
- sclerotina
- fibroina

- colagenul
- elastina
- mucoproteinele.

Anticorpii şi răspunsul imun. Specificitatea de specie a proteinelor.

Anticorpii sau imunoglobulinele au o importanţă foarte mare în demonstrarea faptului că proteinele sunt specifice pentru fiecare specie. Moleculele de anticorpi apar în serul sanguin sau în anumite celule de vertebrate ca răspuns la introducerea unei proteine sau a unei alte macromolecule străine acelei specii. O astfel de macromoleculă străină speciei respective se numeşte antigen. Moleculele specifice de anticorpi produse în acest mod se pot combina cu antigenul care a determinat formarea lor pentru a forma complexul antige-anticorp. Această reacţie, numită răspuns imun, este baza întregului domeniu al imunologiei. Imunitatea faţă de o anumită boală infecţioasă poate fi adesea realizată prin injectarea unei cantităţi foarte mici de componenţi macromoleculari din microorganisme sau virusuri care provoacă boala respectivă. Ca răspuns la antigenul străin se formează anticorpul specific, sau o imunoglobulină, care rămâne în sânge un timp îndelungat. Dacă microorganismul va pătrunde mai târziu în sânge sau în limfă, aceşti anticorpi specifici îl vor putea inactiva sau chiar omorî prin combinare cu componenţii lor antigenici. Răspunsul imun este dat numai de vertebrate.

Anticorpii sunt foarte specifici pentru moleculele străine care le produc. Un anticorp format de un iepure injectat cu ou de găină, de exemplu, se va combina cu acesta, dar nu şi cu alte proteine, cum ar fi hemoglobina umană. Mai mult ei sunt specifici pentru structura tridimensională a albuminei native din oul de găină, astfel încât dacă aceasta este denaturată prin încălzire sau prin alt mijloc, cu deplierea lanţurilor polipeptidice componente sau este modificată chimic, anticorpii nu se vor mai combina cu ea. De aici putem trage următoarele concluzii:

1. Proteine cu funcţii diferite aparţinând unei singure specii determină formarea unor anticorpi diferiţi. Astfel când se imunizează un iepure cu hemoglobină de cal, anticorpii vor precipita hemoglobina de cal şi nu celelalte proteine de cal.
2. Proteine omoloage de la specii diferite nu sunt identice imunologic.
3. Specificitatea anticorpilor reflectă relaţia filogenetică.

Exemplu:

Proteinele omoloage a speciilor foarte înrudite sunt mult mai asemănătoare între ele decât ale speciilor foarte îndepărtate. Astfel, anticorpii produşi de iepure faţă de hemoglobina de cal reacţionează cel mai bine cu hemoglobina de cal. Ei reacţionează, de asemenea puternic cu hemoglobina altor specii înrudite cu calul (zebra, vaca, porcul sau alte copitate) dar sunt mult mai puţin reactivi cu hemoglobina rozătoarelor, păsărilor sau amfibienilor.

Astfel cu cât două specii sunt mai apropiate cu atât mai asemănătoare sunt şi secvenţele de aminoacizi ale proteinelor lor omoloage. Deci, secvenţa de aminoacizi ale proteinelor omoloage poate da informaţii preţioase despre evoluţia diferitelor organisme şi pentru legătura lor filogenetică.

Structura proteinelor

Lanţurile polipeptidice ale proteinelor se pliază în diferite moduri, atât în cadrul propriului lanţ, dar şi între lanţurile vecine, adică intracatenar şi intercatenar. Acest mod de pliere este esenţial pentru activitatea biologică a proteinelor şi această organizare complicată este cea care trebuie conservată pe parcursul procedurilor implicate în purificarea proteinelor. Deşi mult timp s-a considerat că modurile de pliere ale lanţurilor polipeptidice sunt determinate numai de secvenţa aminoacizilor din lanţ, astăzi s-a stabilit că proteinele având aceeaşi secvenţă a aminoacizilor pot exista în forme diferite de împachetare şi că astfel de plieri pot fi influenţate de prezenţa altor proteine.
Structura proteinelor a fost imaginată ca având 4 nivele de organizare, şi anume: structura primară, secundară, terţiară şi cuaternară.

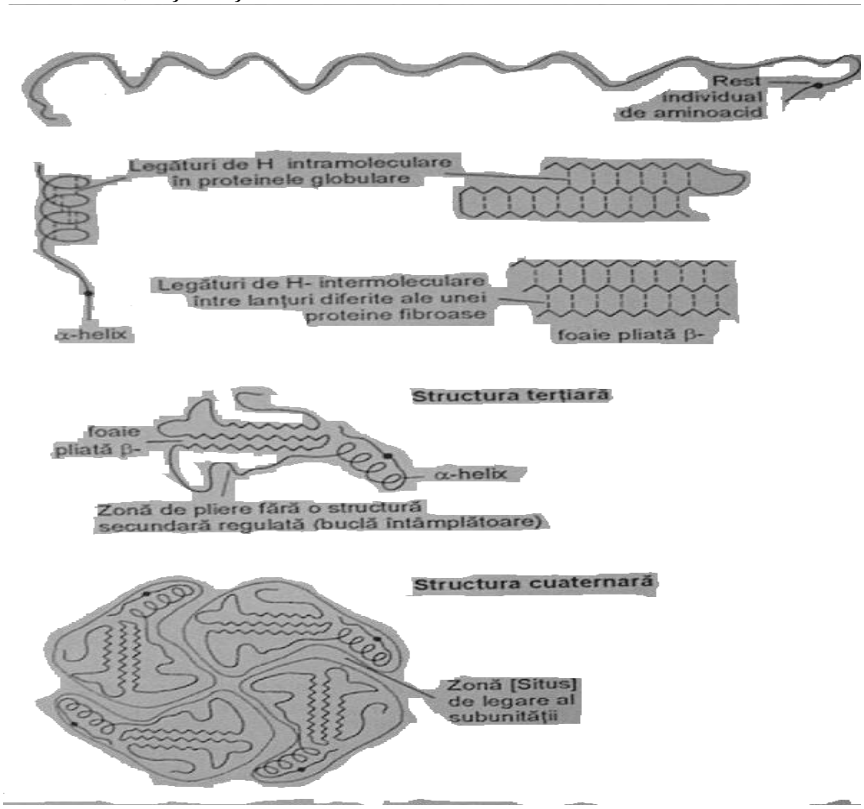
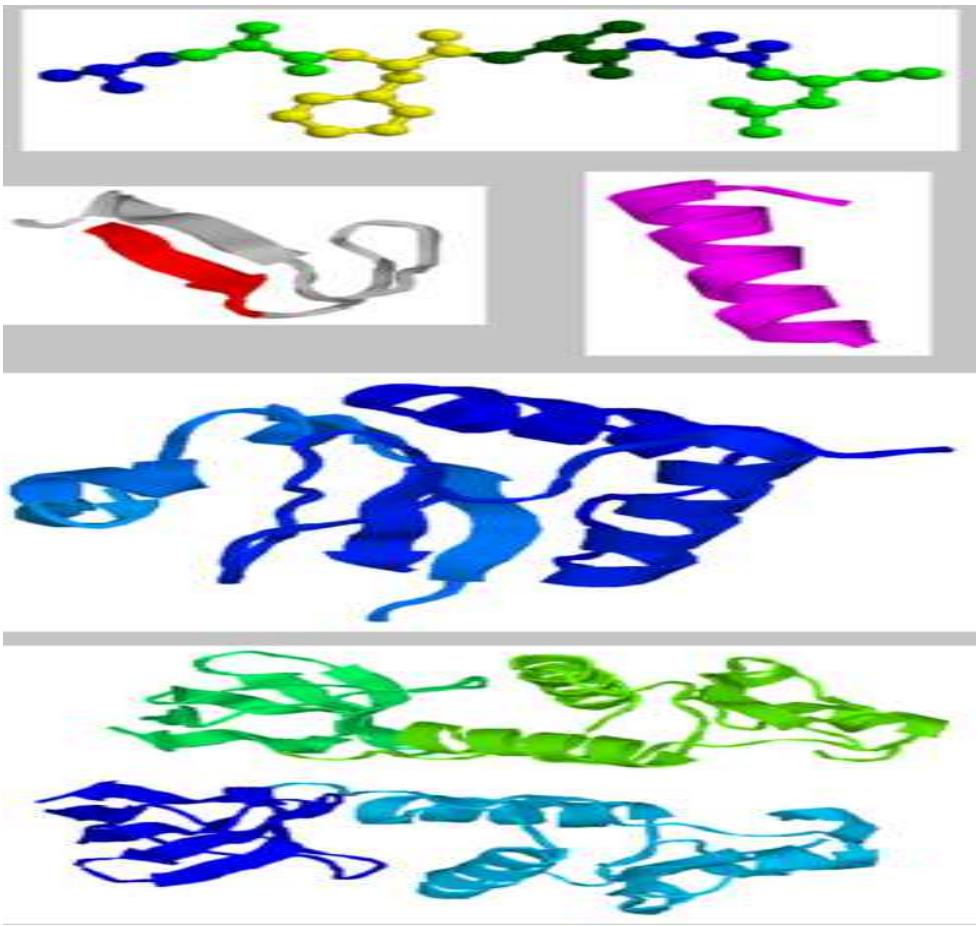
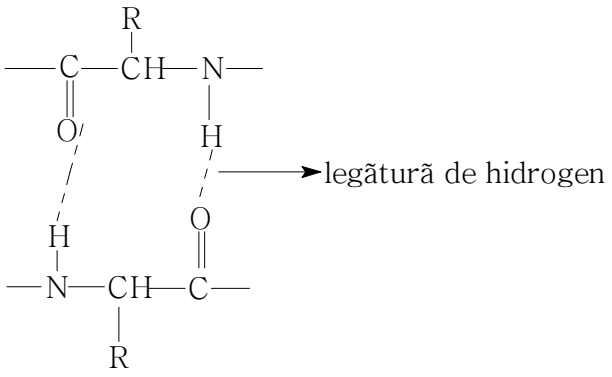

Rest individual de aminoacid
Legături de H intramoleculare în proteinele globulare
Legături de H- intermoleculare între lanţuri diferite ale unei proteine fibroase
α-helix
foaie pliată β-
Structura terţiară
foaie pliată β-
α-helix
Zonă de pliere fără o structură secundară regulată (buclă întâmplătoare)
Structura cuaternară
Zonă [Situs] de legare al subunităţii

Fig. . Principalele tipuri de structuri ale proteinelor



Structurile proteice sunt stabilizate de două tipuri de legături puternice:
legătura peptidică şi *puntea disulfidică,* precum şi de trei tipuri de legături slabe.
Legătura disulfidică se stabileşte între două resturi de cisteină, aparţinând sau nu aceluiaşi lanţ polipeptidic şi este la fel de rezistentă ca şi legătura peptidică la acţiunea agenţilor denaturanţi uzuali ai proteinelor. Această legătură poate fi distrusă prin oxidare cu acid performic sau prin reducere cu betamercatoetanol. Legăturile disulfidice sunt prezente de obicei în proteinele extracelulare şi aproape că lipsesc din cele intracelulare. Legăturile slabe sunt reprezentate în general de legăturile necovalente, şi anume: legături de hidrogen, ionice şi hidrofobe.

Legăturile de hidrogen se stabilesc între grupări –CO şi –NH aparţinând unităţilor peptidice diferite, aflate în poziţie adecvată.



Forţele electrostatice se formează prin atracţia grupărilor cu sarcină opusă ce aparţin aminoacizilor ionizaţi.

Exemplu:

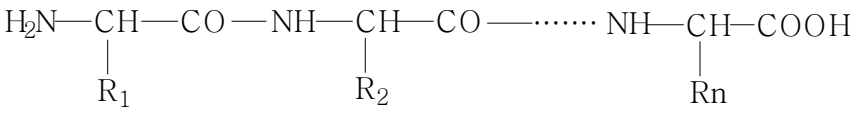
- între un aminoacid dicarboxilic şi gruparea ε – aminică a lizinei.

Un rol semnificativ în menţinerea structuri îl au deasemeni interacţiunile hidrofobe prin care radicalii nepolari ai aminoacizilor hidrofobi tind să se asocieze.

Proteinele în stare naturală au o structură tridimensională unică, ce se exprimă prin conformaţia, care îi determină de astfel şi funcţia.

Structura primară

În structura oricărei proteine sau peptide se distinge un element comun, reprezentat de axul covalent, care se formează prin repetarea grupării peptidice şi o parte a variabilei reprezentată de radicalii aminoacizilor constituienţi.



Structura primară este definită ca secvenţa resturilor de aminoacizi ce derivă din policondensarea lor prin legături α- peptidice. Există mai multe argumente în favoarea acestei structuri, dintre care amintim:

- proteinele au puţine grupări amino- şi carboxil titrabile, iar numărul lor creşte după hidroliză
- dau uşor reacţia biuretului
- sinteza de proteine este posibilă excusiv prin interacţiuni peptidice
- proteinele sunt substrate pentru peptidaze
- identificarea aminoacizilor componenţi prin difracţie cu raze X şi spectroscopie în infraroşu (IR).

Cunoaşterea structurii primare a proteinei constă în stabilirea naturii radicalilor, în ordinea înlănţuirii şi localizarea eventualelor punţi disulfidice şi stabilirea tuturor conexiunilor dintr-un lanţ polipeptidic.

Pentru determinarea compoziţiei, proteina este supusă hidrolizei în cataliză acidă, bazică sau enzimatică, urmată de separarea şi identificarea aminoacizilor rezultaţi. Hidrolizatul obţinut în urma reacţiei de hidroliză este analizat prin cromatografie sau alte tehnici automatizate. După separarea aminoacizilor, cuatentificarea lor se face prin reacţia de culoare cu ninhidrina sau fluoresceina, care sunt reacţii de mare sensibilitate.

Pentru determinarea succesiunii aminoacizilor dintr-un lanţ se folosesc tehnici manuale şi automate bazate pe procese chimice şi enzimatice. Dacă catena polipeptidică este relativ scurtă, se identifică mai întâi capetele N şi C terminale şi apoi secvenţa cuprinsă între ele. Pentru lanţuri mai lungi, după identicarea capetelor N şi C terminale, fragmentul rămas între ele se scindează în fragmente de până la 50 de resturi, care se separă prin cromatografie sau electroforeză. Se determină structura primară a fiecărui fragment şi apoi se potrivesc în ordinea lor iniţială, făcându-se reconstituirea lanţului. Numărul

de grupări terminale găsite oferă informaţii asupra numărului de lanţuri ce compun proteina. Capătul N terminal se poate identifica prin marcarea sa cu un compus care formează o legătură covalentă, stabilă în condiţiile în care legăturile peptidice sunt hidrolizate. În acest scop s-au utilizat 2,4 – dinitrofluorbenzenul, clorura de Dansyl şi clorura de Dabsyl. O altă metodă enzimatică foloseşte aminopeptidaza, care hidrolizează legătura peptidică în care este cointeresată aminoacidul N terminal. Astfel, enzima va detaşa pe rând câte un aminoacid ce ajunge în poziţie terminală. Dezavantajul acestei metode este că acţiunea enzimei este foarte lentă în cazul unor aminoacizi.

Capătul C terminal poate fi stabilit prin acţiunea carboxipeptidazei, enzimă ce scindează lanţul peptidic cu un rest, începând dinspre aminoacidul cu gruparea carboxilică liberă. După un timp de reacţie se separă şi se identifică aminoacizii eliberaţi.

Odată ce fragmentele rezultate din lanţul iniţial au structura primară descifrată, urmează rezolvarea succesiunii lor în lanţ, pentru care se foloseşte tehnica peptidelor suprapuse. Lanţul peptidic original se scindează prin două sau mai multe metode diferite de hidroliză specifică şi din compararea seturilor de peptide obţinute se deduce integral secvenţa iniţială. Pentru proteinele mari, cu peste 1000 de resturi de aminoacizi, secvenţarea lanţului devine o operaţie dificilă şi care cere mult timp. A apărut însă, tehnologia ADN-ului recombinat, care a permis o nouă modalitate de abordare experimentală în chimia proteinelor.

Semnificaţia structurii primare

Prima proteină a cărei structură primară a fost identificată este insulina. S-a dovedit că structura primară a proteinelor este determinată genetic şi că proteinele din toate organismele sunt sintetizate printr-un mecanism comun.S-a constatat că secvenţa de aminoacizi este veriga între mesajul genetic cuprins în ADN şi structura tridimensională responsabilă de funcţia biologică a proteinei. Cunoaşterea secvenţei de aminoacizi aduce informaţii esenţiale pentru descifrarea conformaţiei şi mecanismului de acţiune, cu privire la înrudirea proteinelor, în legătură cu evoluţia filogenetică a speciilor precum şi cu domeniul patologiei moleculare. Activitatea biologică a unei proteine poate depinde direct şi indirect de structura ei primară. Modificări minore, ca înlocuirea, pierderea sau inserţia unui aminoacid se traduc biochimic prin polimorfismul proteinelor în cadrul speciei conferind individualitate organismelor prin specificitatea de specie şi prin boli genetice consecutive alterării sau pierderii funcţiei.

Structura secundară a proteinelor

Structura secundară a proteinelor se referă la dispunerea spaţială a resturilor de aminoacizi învecinaţi în secvenţa liniară, ce poate fi ordonată sau dimpotrivă cu puţine neregularităţi. Prin difracţie cu raze X a fost confirmată existenţa conformaţiilor ordonate şi au fost observate structuri ce se repetă periodic. Tot prin tehnica cristalografică cu raze X a fost stabilit caracterul planar, rigid al legăturii peptidice, datorat conjugării.

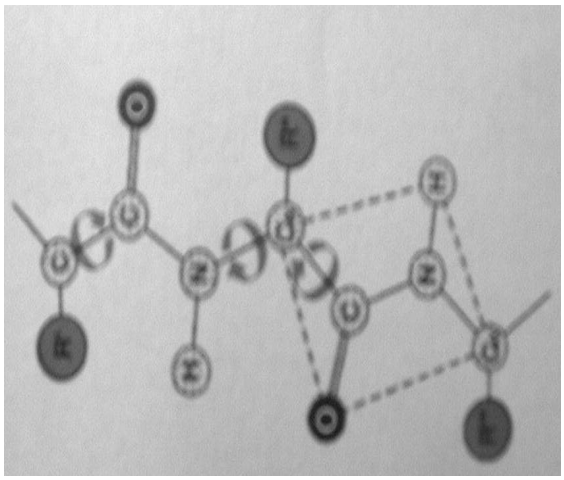


Figura . Coplanaritatea celor 4 atomi

Consecinţele formării acestui sistem puternic conjugat sunt coplanaritatea celor 4 atomi, ceea ce presupune imposibiliatea rotirii şi existenţei formelor cis şi trans. S-a observat că izomerul trans este favorizat, deoarece este mai sărac în energie. Scheletul lanţului polipeptidic apare, deci ca o succesiune de planuri rigide unite prin atomii de Cα ai aminoacizilor constitutivi. Două treimi dintre atomii lanţului poilpeptidic se află în poziţii fixe unul faţă de altul, dar de o parte şi de alta a fiacărei legături peptidice există o libertate de mişcare. Astfel 2 planuri succesive se pot roti în jurul aceluiaşi Cα.

Prezenţa unor radicali mai mult sau puţin voluminoşi va impune amplitudinea rotaţiilor,

astfel că unghiurile nu pot avea valori întâmplătoare, ci sunt caracteristice diferitelor tipuri de structuri secundare. Structura secundară prezintă 2 modele, şi anume: modelul α-helix şi foaie pliată.

Modelul α-helix

Modelul α-helix reprezintă un tip de structură secundară ce presupune ca lanţul să se înfăşoare strâns pe o direcţie spiralată, formând un cilindru cu interiorul aproape plin, din care radicalii aminoacizilor apar înt-o dispunere helicoidală.

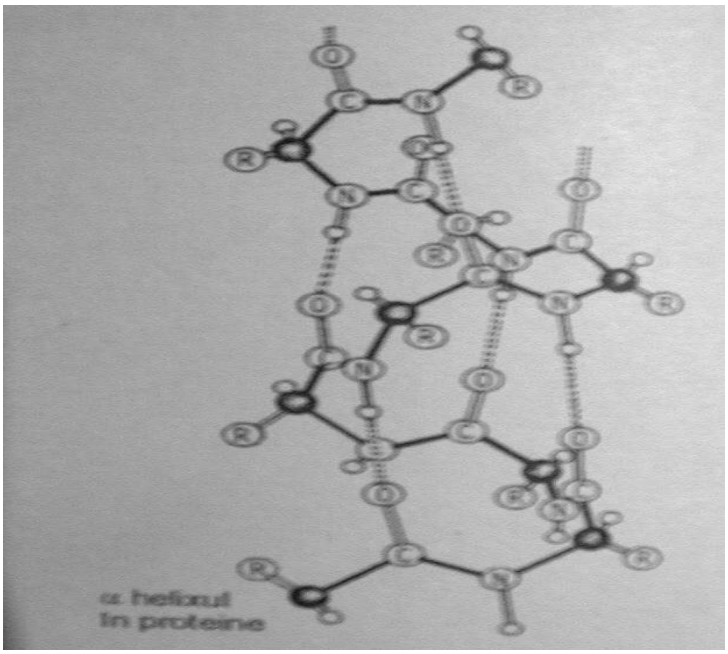


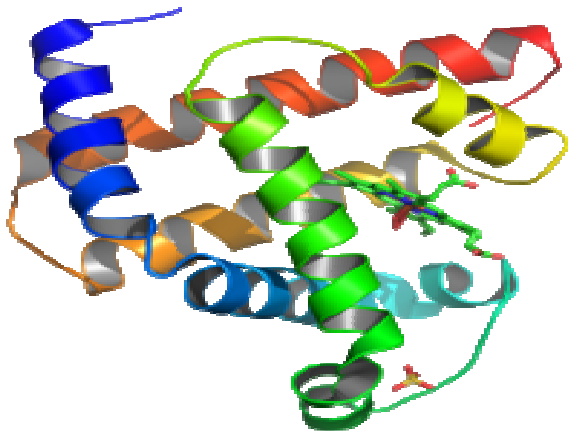
Figura . Modelul de α-helix

Ca sens de răsucire în proteine a fost identificat α-helix pe dreapta. Stabilitatea α-helixului este menţinută prin legături de H ce se formează între grupările carbonil şi aminice din lanţul spiralat aflate faţă în faţă la o distanţă adecvată. La α-helix fiecare aminoacid avansează spirala cu $1,5A^0$ la o rotire de 100^0, pe fiecare spirală existând 3,6 resturi, deci pasul spiralei este de $5,4A^0$. Aceste dimensiuni arată formarea legăturii de H între grupările CO şi NH din cadrul lanţului polipeptidic.

Există unii aminoacizi care sunt nefavorabili structurii de α-helix. Aceştia sunt aminoacizi ce stabilizează structura de α-helix.

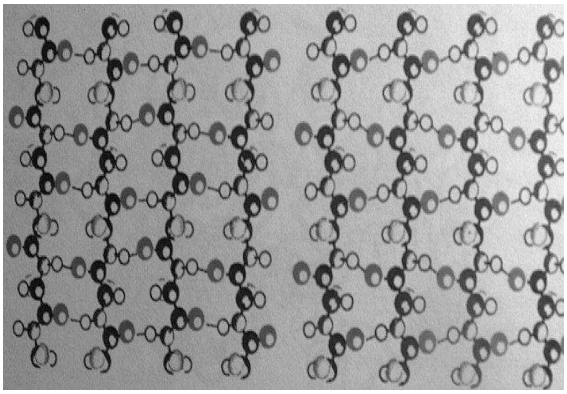
Exemplu: - prolina poate să rupă spirala. Aminoacizii cu resturi laterale voluminoase (arg, ile, lys, asp, glu) destabilizează helixul prin interfernţe fizice sau electrostatice.

Conţinutul de α-helix în proteine cu structură spaţială este variabil. Lungimea şi repartizarea segmentelor de α-helix depinde de distribuţia resturilor favorabile sau destabilizatoare în lungul lanţurilor. În mioglobină şi hemoglobină apare ca motiv structural major, iar în altele lipseşte chimotripsina. La majoritatea proteinelor se găseşte ca helix singular pe distanţe scurte ($40\ A^0$), rar pe zone extinse de $1000A^0$. Două sau câteva α-helixuri se pot împleti ca şuviţele unui şnur, aşa cum apar în proteinele fibroase: α-keratina din păr, miozina, fibroina, care îndeplinesc un rol mecanic de formare a mănunchiurilor rezistente de fibre.



Moelul β sau foia pliată

Structura de foaie pliată a fost studiată tot de Pauling şi Corey, curând după α-helix, de aceea au numit-o structura β. Cele 2 modele diferă în primul rând prin faptul că lanţul polipeptidic în conformaţia β este mai relaxat, fiind aproape complet extins. Distanţa axială între două resturi succesive este de 3,5A^0 faţă de 1,5A^0 în α-helix, cu o periodicitate decorespunzând la cca 7A^0. Lanţurile polipeptidice sunt aşezate în foi pliate, care sunt legate între ele prin legături de hidrogen. Radicalii aminoacizilor se situează deasupra şi dedesubtul planului foii. Dacă sensul de desfăşurare a lanţului în porţiunile adiacente coincide, foaia este numită paralelă. Aranjamentul alternativ în foaia antiparalelă este favorabil, succesiunea grupărilor CO şi NH fiind complementare.



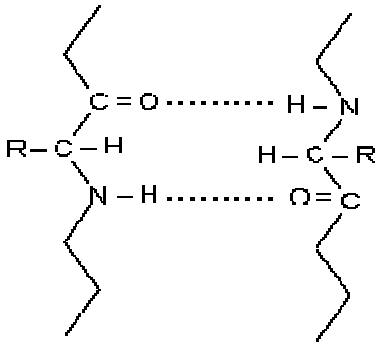


Figura nr.. Strucura de foaie pliată.

Aminoacizi mici: gly, ala, avantajează foaia pliată, iar cei cu radical mare sau cu sarcină stânjenesc aranjamentul.

Ca şi modelul de α-helix, structura β se întâlneşte în multe proteine globulare sau fibroase. Asocieri de lanţuri paralele apar în fibroina (mătase) şi antiparalele apar în β-keratina.

Un exemplu de proteină fibrilară prezentă la animlaele superioare este colagenul din ţesutul

conjunctiv, fiind cea mai răspândită proteină dintre proteinele vertebratelor superioare. Cu cât un animal este mai mare şi mai greu, cu atât proporţia de colagen este mai mare. Fibrele de colagen sunt aranjate în moduri diferite, depinzând de sarcina biologică pe care o are de îndeplinit proteina.

Structura terţiară a proteinelor

Structura terţiară a proteinelor reprezintă aranjamentul spaţial general al moleculei, rezultat prin asocierea dintre diferite regiuni ale aceluiaşi lanţ, a căror structură secundară poate sau nu varia. Aranjamentul spaţial al proteinelor s-a studiat cu raze X.

Printre proteinele globulare ale căror structură terţiară este binecunoscută sunt: mioglobina, hemoglobina, lizozomii, ribonucleaza, citocromul c, lactat dehidrogenaza. Reprezentantul clasic al structurii terţiare este **mioglobina.**

Mioglobina este o proteină globulară relativ mică, care conţine un singur lanţ polipeptidic format din 153 resturi de aminoacizi, a căror secvenţă încă nu se cunoaşte. Mioglobina conţine o feroproteină, sau hem, grupare identică cu cea a hemoglobinei, fiind şi ea capabilă să se oxigeneze şi să se deoxigeneze.

Mioglobina se găseşte în celulele muşchilor scheletici şi este deosebit de abundentă la mamiferele acvatice, cum ar fi: balena, foca sau morsa, a căror muşchi sunt atât de bogaţi în mioglobină încât sunt coloraţi în brun închis.

Scheletul moleculei de mioglobină este format din opt segmente aproximativ drepte, unite prin porţiuni curbate. Fiecare segment drept este un α-helix, cel mai lung fiind constituit din 23 de aminoacizi, iar cel mai scurt este format din numai 7 aminoacizi şi toţi au sensul de răsucire spre dreapta. Aceste regiuni α- helicoidale reprezintă 70% din aminoacizii din moleculă. Deşi structura mioglobinei pare neregulată şi asimetrică, ea nu este deloc întâmplătoare. Toate moleculele de mioglobină au aceeaşi configuraţie.

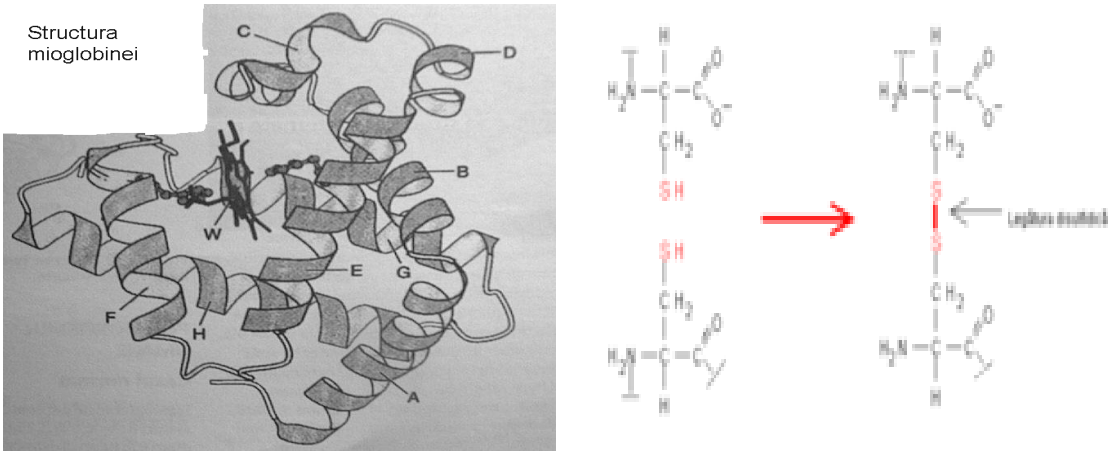


Figura nr. . Structura mioglobinei

Alte aspecte structurale legate de structura mioglobinei sunt următoarele:

1. Molecula este foarte compactă, în interiorul ei rămâne spaţiu pentru patru molecule de apă.
2. Toate grupările R polare ale resturilor de aminoacizi sunt localizate pe suprafaţa externă a moleculei şi sunt hidratate.
3. Aproape toate grupările R nepolare sau hidrofobe se află în interiorul moleculei, ferite de expunerea la apă.
4. Resturile de prolină se găsesc numai în zonele de curbură, care conţin, deasemenea aminoacizi care nu formează cu uşurinţă α-helix, de exemplu: izoleucina şi serina.
5. Conformaţia de ansamblu a lanţului polipeptidic este aparent aceeaşi la mioglobina tuturor speciilor speciilor studiate, deşi ele diferă oarecum în compoziţia de aminoacizi. Astfel,

resturile constante de secvenţă pot fi implicate în determinarea poziţiei curburilor şi a direcţiei segmentelor drepte.

Ribonucleaza, este o enzimă pancreatică ce depolimerizează molecula de ARN şi exemplifică un model diferit de împachetare tridimensională a lanţului. Catena ei este formată din 124 de aminoacizi şi este organizată în proporţie de 40% ca foaie pliată antiparalelă, 15% în α-helix, restul lanţului găsindu-se sub formă de bucle. În structura terţiară forma generală a moleculei aminteşte de cochilia unui melc, la a cărei stabilitate contribuie şi 4 punţi disulfidice.

Structura cuaternară

Structura cuaternară apare la proteinele alcătuite din două sau mai multe lanţuri polipeptidice care se asociază formând o unitate de sine stătătoare, cu formă spaţială bine definită şi posedând o anumită activitate biologică.

Structura cuaternară se referă la felul, numărul şi aranjamentul lanţurilor polipeptidice încluzând şi natura contactelor dintre ele.

Cele mai multe proteine oligomer sunt formate dintr-un număr mic şi par de lanţuri, care se numesc subunităţi sau protomeri. Subunităţile identice sau diferite au fiecare structura sa spaţială; ele se pot aşeza succesiv pe direcţie liniară, circulară sau mai compact suprapuse în forme geometrice diferite. Aceste posibilităţi de aranjare se referă la protomeri identici sau foarte puţin diferiţi. Ansamblul prezintă simetrie, suprafeţele de contact sunt complementare, sugerând gradul înalt de specificitate al structurii cuaternare.

Monomerii realizează interacţiuni slabe: (legături saline, legături de hidrogen, forţe Wan der Waals, legături hidrofobe), proteina putând astfel disocia reversibil.

Lanţurile izolate sunt lipsite de activitate, funcţia fiind rezultatul ansamblului cu structură cuaternară.

Exemple de proteine cu structură cuaternară:

- creatin kinaza, lactat dehidrogenaza, glutamat dehidrogenaza, enzime, proteine neenzimatice: hemoglobina , imunoglobulina G.

Alte exemple de proteine cu structură cuaternară sunt enzimele allosterice.

Noţiunea de structură cuaternară se poate extinde şi la unele heteroproteine.

Printre cele mai simple proteine oligomere este **hemoglobina,** care este formată din 4 lanţuri polipetidice.

Hemoglobina conţine **2 lanţuri α** formate din 141 de resturi de aminoacizi şi **2 lanţuri** β formate din 146 de resturi de aminoacizi; fiecare dintre acestea având ataşat printr-o legătură necovalentă câte un radical hem. Molecula a fost studiată în forma sa oxigenată, care are o structură sferică, compactă, cu dimensiuni de: 6,4/5,5/5,0mm.

În hemoglobină, între cele 2 lanţuri α, ca şi între cele două lanţuri β există foarte puţine contacte, în schimb, numeroase grupări R fac legătura între perechile de lanţuri care nu sunt asemenea.

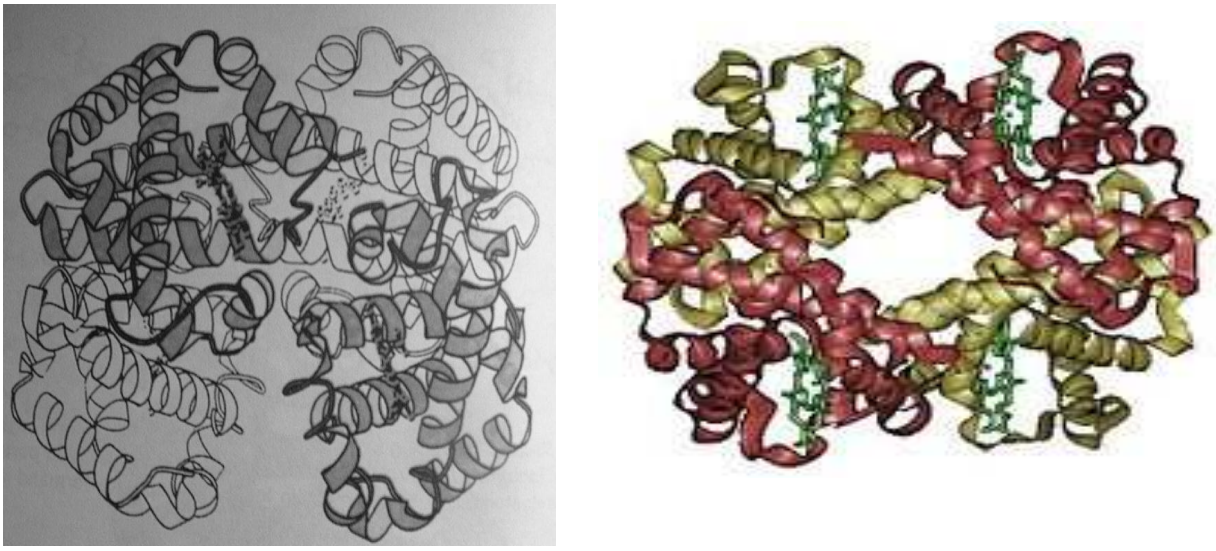


Figura nr.. Structura hemoglobinei

Un inters deosebit îl prezintă aşezarea pe fiecare subunitate a câte uneia dintre cele 4 grupări hem, care leagă cele 4 molecule de oxigen. Aceste grupări hem, molecule plane, în care atomii de fier formează complecşi de coordinare plan-pătraţi, sunt destul de îndepărtate între ele şi sunt situate la anumite ungliuri unele de altele. În molecula hemoglobinei rămâne o cavitate centală, mărginită de grupări cu radical R polare.

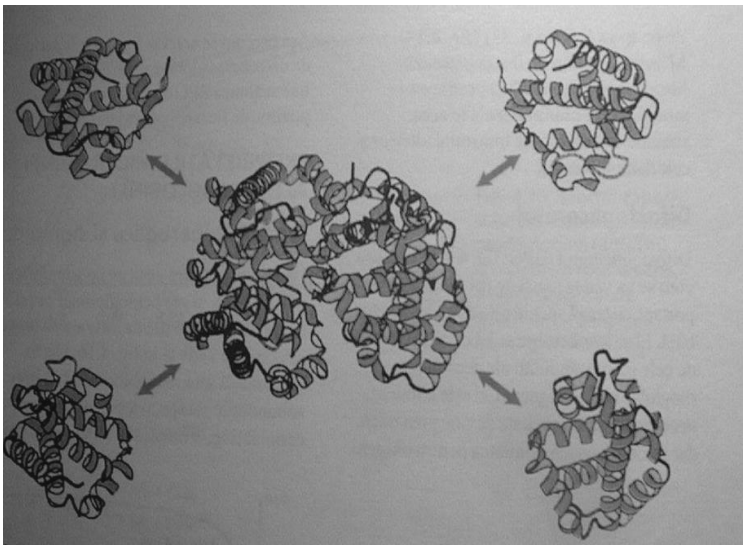


Figura nr.. Formarea hemoglobinei

În sângele uman adult s-au identificat trei hemoglobine a căror prezenşă este constantă,şi anume hemoglobinele A1, A2 şi F. Rolul fiziologic al hemoglobinei A2 nu este bine definit încă, iar în ceea ce priveşte hemoglobina F fetală aceasta reprezintă un tip de hemoglobină adaptat pentru condiţiile de oxigenare din uter. După naştere hemoglobina F este înlocuită cu hemoglobina A1.

Hemoglobina are proprietatea de a accepta oxigenul , proprietate dublată de posibilitatea de

a l transporta organism. Acest lucru sete posibil datorită structurii tetramerice ce permite atât acceptarea unei cantităţi mari de oxigen în plămân, cât şi posibilitatea de eliberare a acestuia în mod treptat, în funcţie de presiunea de oxigen din ţesutul respectiv. Legarea oxigenului de hemoglobină se face la nivelul celor 4 atomi de fier conţinuţi în cele 4 molecule de hem ale lanţurilor α şi ß. Fierul din hemoglobină nu îşi schimbă valenţa în urma fixării oxigenului el rămâne deci sub formă de ion feros. Ia naştere astfel oxihemoglobina, compus labil care la presiune scăzută de oxigen la nivelul ţesuturilor pune în libertate oxigenul cu reformarea hemoglobinei. Legarea oxigenului de hemoglobină şi eliberarea sa constituie un model de adaptare biologică faţă de o anumită necesitate a organismelor superior organizate. Combinarea gradată şi controlată a hemoglobinei cu oxigenul, precum şi existenţa unor forme parţial saturate cu oxigen, permite oxigenarea tuturor celulelor, indiferent de presiunea de oxigen existentă la nivelul lor.

În afară de oxigen hemoglobinele se pot uni reversibilşi cu alte gaze, iar valenţa fierului în compuşii care rezultă este caşi în oxihemoglobină şi anume +2. Gazul pentru care hemoglobina are o afinitate mare este oxidul de carbon, formându se carboxihemoglobina mai stabilă ca şi oxihemoglobina. Acest lucru este motivul pentru care într un mediu saturat oxid de carbon pot să apară intoxicaţii grave.

Ambele forme oxi şi carboxihemoglobina se pot transforma prin desfacerea oxigenului respectiv a oxidului de carbon simultan cu o oxidare a ionului feros la feric, într un compus numit methemoglobină. Acest lucru are loc în mod continuu în eritrocit unde se găseşte într o concentraţie de 0,4% dintotalul hemoglobinei, constituid o etapă preliminară catabolizării sale. O cantitate limitată de methemoglobină se poate transforma în hemoglobină sub acţiunea unei enzime numită methemoglobinreductază. Concentraţia methemoglobinei nu creşte mai mult de 0,4% din totalul hemoglobinei eritrocitare numai prin introducerea în organism de oxidanţi ca fericianura şi azotiţi sau chiar a unor medicamente cum ar fi antipirina. Combinaţia hemoglobinei cu gazele au spectre de absorbţie caracteristice care permit identificarea fiecareia dintre ele.

Denaturarea proteinelor

Denaturarea proteinelor reprezintă perturbarea structurii lor native, înalt organizate, trecerea la o formă întâmplătoare cu creşterea entalpiei sistemului, astfel că activitatea biologică este compromisă. Denaturarea proteinelor are loc sub acţiunea unor agenţi denaturanţi.

Agenţii denaturanţi sunt: temperatura, acizii, bazele, oxidanţii, unele metale, ureea, guanidina, solvenţii organici.

Agenţii denaturanţi acţionează distrugând legăturile ce dau stabilitate structurii tridimensionale.

Fenomenul de denaturare priveşte nivelele de structură secundară, terţiară şi cuaternară, menţinute prin legături slabe, fără afectarea structurii primare.

Procesul de denaturare poate să fie până la un punct reversibil. Însă, dacă agentul denaturant acţionează mai energic, proteina se denaturează ireversibil. În cazul unui proces reversibil, după îndepărtarea agentului cauzant, proteina se renaturează, redobândind structura nativă. Aceasta se explică prin dependenţa structurii spaţiale de cea primară.

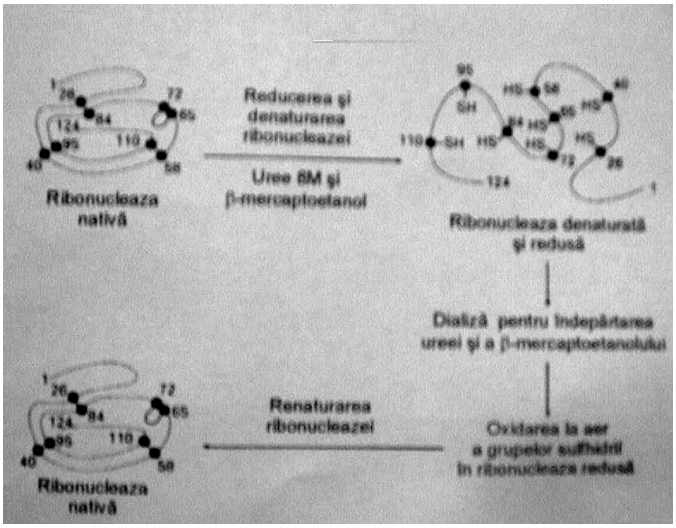

Reducerea şi denaturarea ribonucleazei
Uree 8M şi β-mercaptoetanol
Ribonucleaza nativă
Ribonucleaza denaturată şi redusă
Dializă pentru îndepărtarea ureei şi a β-mercaptoetanolului
Oxidarea la aer a grupelor sulfhidril în ribonucleaza redusă
Renaturarea ribonucleazei
Ribonucleaza nativă

Figura nr.. Procesul de denaturare şi renaturare a proteinelor

Proteinele denaturate îşi schimbă proprietăţile fizice, cum ar fi: activitatea optică şi vâscozitatea. Deasemenea solubilitatea în apă scade producând precipitarea lor. Acest fenomen de precipitare este exploatat în biochimia analitică la cercetarea proteinelor din lichidele biologice în scopul deproteinizării.

Alte aplicaţii ale fenomenului de denaturare sunt: procedeele de purificare a proteinelor şi operaţia de sterilizare.

IV. Enzime

Enzimele sunt proteine ce posedă o funcţie înalt specializată şi anume aceea de biocataliză şi se deosebesc de catalizatorii din lumea nevie prin câteva proprietăţi care le definesc. Enzimele se caracterizează prin următoarele proprietăţi:

- capacitatea catalitică mare, eficienţa catalitică creşte cu un factor de $10^6 – 10^{12}$ faţă de reacţia necatalizată.
- Specificitatea superioară de reacţie – elimină formarea de produşi secundari
- Activităţile catalitice enzimatice sunt reglate prin mecanisme diferite, care privesc fie acţiunea lor, fie cantitatea de enzimă sintetizată. Controlul enzimatic are semnificaţie majoră pentru reglarea metabolismului celular.
- Enzimele acţionează în condiţii foarte blânde şi anume la temperatura celulelor vii, la pH aproape neutru şi la presiune atmosferică.

Nomenclatură şi clasificare

Multă vreme enzimele au fost denumite prin adăugarea sufixului **aza** la numele substratului.
Ex. Amilaza, ureeza, alcool dehidrogenaza.

Unele denumiri însă nu includeau nici substratul, nici reacţia catalizată.
Ex. Tripsina, pepsina, catalaza.

Datorită faptului că numărul de enzime este în continuă creştere, nomenclatura veche crea confuzii, astfel că s-a impus introducerea unei terminologii unitare şi a unei clasificări adecvate.

În 1961, Comisia de Enzime a Uniunii Internaţionale de Biochimie, adoptă o claisficare şi o nomenclatură sistematică, bazată pe natura reacţiei chimice catalizate.
Astfel, enzimele au fost clasificate în 6 clase, fiecare cuprinzând un număr de subclase şi, respectiv subsubclase.

1. Oxidoreductaze – enzime ce catalizează reacţiile de oxidoreducere.
2. Transferaze – enzime ce catalizează reacţiile de transfer de grupări funcţionale.
3. Hidrolaze – enzime ce catalizează reacţiile de hidroliză.
4. Liaze – enzime ce catalizează reacţiile de descompunere a substratului prin alte mecanisme decât cele de oxidare şi hidroliză.
5. Izomeraze – enzime ce catalizează reacţii de interconversiune a izomerilor.
6. Ligaze – enzime ce catalizează reacţii de formare a legăturii C-O, C-C, C-S, C-N, cuplată cu scindarea unui compus macroergic (ATP).

Pentru a defini o enzimă, fiecăruia i se atribuie un număr sistematic format din numele substratelor, urmat de cuvântul ce indică tipul de reacţie catalizată, la care adaugă sufixul **aza**. Deasemenea, fiecărei enzime i se atribuie un cod determinat de poziţia pe care enzima o ocupă în sistemul zecimal.
Exemplu: Acest număr de clasificare este alcătuit din iniţialele EC (Comisia de enzime) şi 4 cifre. Prima cifră indică clasa din care face parte enzima, a doua indică subclasa, determinată de felul grupării implicate în reacţie, a treia cifră reprezintă subsubclasa , adică natura particulară a substratelor din grupul respectiv, iar a patra cifră reprezintă poziţia ocupată de enzimă în subsubclasă.

- alcool dehidrogenaza: E.C. 1.1.1.1.
- glucozooxidaza: E.C. 1.1.3.4.

Structura enzimelor

În cea mai mare parte, enzimele sunt proteine globulare. Excepţie face ribonucleaza P.

O mică proporţie de enzime sunt proteine simple (pepsina, chimotripsina, lizozim), iar celelalte sunt heteroproteine (metaloenzime, dehidrogenaze piridinice). Unele enzime sunt alcătuite

sunt alcătuite dintr-un singur lanţ polipeptidic (ribonucleaza), altele din mai multe lanţuri identice sau diferite.

Masa moleculară a enzimelor este extrem de variabilă datorită lungimii lanţurilor polipeptidicre componente, cât şi datorită asocierii unui număr diferit de subunităţi, ca în cazul enzimelor oligomer.

Pe lângă aceste aspecte legate de structură, la enzime mai apar anumite caracteristici specifice lor:

- identificarea centrului catalitic, şi, la enzimele allosterice şi a centrilor allosterici.
- Cunoaşterea cofactorilor enzimatici cât şi locul lor în ansamblul structural enzimatic.

Cofactorii enzimatici sunt componente micromoleculare indispensabile activităţii unui număr mare de enzime.

Cofactorul poate să fie un ion metalic sau o moleculă organică specifică, uneori sunt ceruţi ambii şi foarte rar cofactorul este un anion anorganic.

1. Metalele în cataliza enzimatică

Un număr mare de enzime cer pentru a-şi manifesta activitatea ioni metalici.Zn^{+2} , Mn^{+2} , Mo^{+2} , Co^{+3} , Fe^{+3} , Cu^{+2} , Mg^{+2} , K^{+} , Na^{+} , Ca^{+2} . Unele enzime care conţin o cantitate definită de ion metalic funcţional, fiind strâns legat în structura lor se numesc **metalo-enzime**, iar altele care leagă slab metalu se numesc **enzime metalo-activate**.

Exemple:

- anhidraza carbonică: Zn^{+2}
- enzimele heminice: Fe^{+3}
- piruvat kinaza : Mg^{+2} , K^{+}

2.Cofactorii de natură organică sunt sisteme conjugate în care mobilitatea electronică este foarte mare, ceea ce explică puterea lor catalitică. Cofactorii slab legaţi de enzimă sau ataşaţi temporar se numesc **coenzime**.

Exemplu: acid lipoic, coenzima Q, biopterinele, NAD^{+}, $NADP^{+}$, FAD, CoA.

Centrul activ al enzimei (centrul catalitic)

Centrul activ al enzimei este o zonă restrânsă din structura enzimei responsabilă direct de funcţia ei catalitică, aceea de legare şi transformare a substratului. Această regiune reprezintă la majoritatea enzimelor cca 5% din total.

Ca entitate tridimensională centrul activ poate cuprinde o porţiune sau mai multe din acelaşi lanţ, ori din lanţuri diferite, apropiate spaţial.

Exemplu:

Din centrul activ al ribonucleazei fac parte: His_{12}, His_{119}, Lys_{41}. Aceşti aminoacizi deşi sunt situaţi la distanţă în structura liniară, sunt apropiaţi în structura terţiară, datorită plierii lanţului.

Centrii activi conţin resturi de aminoacizi şi eventual cofactori cu rol de a recunoaşte şi lega substratul sau care participă în transformarea lor chimică, uneori aceşti aminoacizi
îndeplinind ambele funcţii. Alţi aminoacizi aflaţi la distanţe variabile de centrul activ contribuie la stabilitatea structurii proteice, sunt **resturi structurale**, considerate alături de resturile catalitice şi de legare ca esenţiale pentru activitatea enzimei.

De fapt, în procesul catalitic participă indirect întreaga moleculă. Activitatea este condiţionată de existenţa conformaţiei native a structurii enzimatice.

Aminoacizii care nu participă în nici un fel la actul catalitic sunt numiţi **resturi neesenţiale**, ele conferind moleculei anumite proprietăţi fizico- chimice.

Mecanismul de acţiune al enzimelor

Procesul catalitic constă în formarea complexului cu substratul sau substratele, ceea ce determină o scădere a energiei stării de tranziţie, transformarea chimică şi eliberarea produşilor. Se

cunosc următoarele mecanisme de acţiune ale enzimelor:

Cataliza prin distorsie implică interacţiuni care deformează legăturile şi unghiurile acestora în molecula substratului. În unele cazuri, contorsia, poate fi consecinţa ataşării covalente a substratului de enzimă.

Cataliza acido-bazică se datorează radicalilor aminoacizilor din centrul activ care pot funcţiona ca acizi sau baze Bronsted sau ca acizi sau baze Lewis.

Cataliza prin orientarea reactanţilor. Enzima are rolul de a dispune substratele într-o poziţie favorabilă reacţiei.

Specificitatea catalizei enzimatice

Specificitatea unei enzime reprezintă capacitatea unei enzime de a selecta dintr-un număr de compuşi substratul particular şi a-l transforma printr-o reacţie de un anume tip. Se distinge : specificitatea de acţiune (de reacţie), şi specificitatea de substrat.

Specificitatea de recţie.

Spre deosebire de catalizatorii neproteici, care accelerează o varietate de reacţii, o enzimă catalizează, de regulă, un singur tip de reacţie.

Exemplu:

- o reacţie de hidroliză
- o reacţie redox
- formarea unei legături.

Există, însă unele proteine, puţine la număr, cu activităţi polienzimatice. În acest caz proteina posedă centri catalitici independenţi, responsabili de reacţii diferite ce decurg prin mecanism deosebit.

Specificitatea de substrat reprezintă calitatea enzimei de a forma complexul enzimă-substrat ca prima etapă obligatorie în transformarea acestuia.

Dacă enzima acţionează asupra unei varietăţi de compuşi avem de-a face cu o **specificitate relativă (de grup),** în care caz enzima are capacitatea de a transforma un număr de substrate înrudite chimic.

Exemplu:

- hidrolaze: - esteraze
  - peptidaze
  - glicozidaze
- proteaze: - exopeptidaze
  - endopeptidaze.

Specificitatea relativă are importanţă în biochimia analitică, deoarece permite introducerea de substrate artificiale la determinări enzimatice.

Se cunosc şi enzime cu **specificitate absolută**. Acestea sunt inactive faţă de analogii structurali ai substratului, ceea ce presupune recunoaşterea integrală a unei molecule, precum şi o rigiditate a centrului activ, în conformitate cu modelul **cheie- broască.**

Exemplu:

- ureaza
- arginaza
- anhidraza carbonică
- fructozo-1,6-difosfataza.

Stereospecificitatea enzimelor.

Stereospecificitatea enzimelor este un caz de specificitate absolută. Există un număr mare de substrate care se caracterizează prin asimetrie structurală, iar în procesele metabolice adeseori se întâlneşte unul din izomerii posibili.

Exemplu:

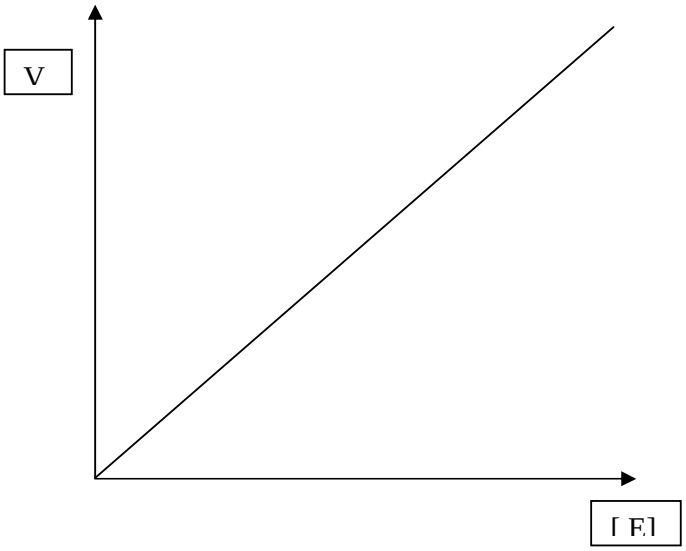
- L – şi D – aminoacid oxidazele sunt specifice pentru stereoizomerii respectivi.
- Alte enzime recunosc numai izomerii geometrici: succinat dehidrogenaza, fumaraza.

Factorii care influenţează activitatea enzimatică

În reacţiile enzimatice viteza de reacţie se măsoară fie prin cantitatea de substrat transformată, fie prin cantitatea de produs format, exprimată în molaritate, iar timpul se exprimă în minute.
Viteza unei reacţii enzimatice poate fi influenţată de un număr de factori, dintre care amintim: concentraţia de enzimă, concentraţia de substrat, temperatura, pH, inhibitori.

1. Influenţa concentraţiei de enzimă

Viteza unei reacţii enzimatice arată o dependenţă liniară de concentraţia enzimei, în condiţiile în care concentraţia de substrat este fixă.



Dependenţa vitezei de reacţie de concentraţia de enzimă

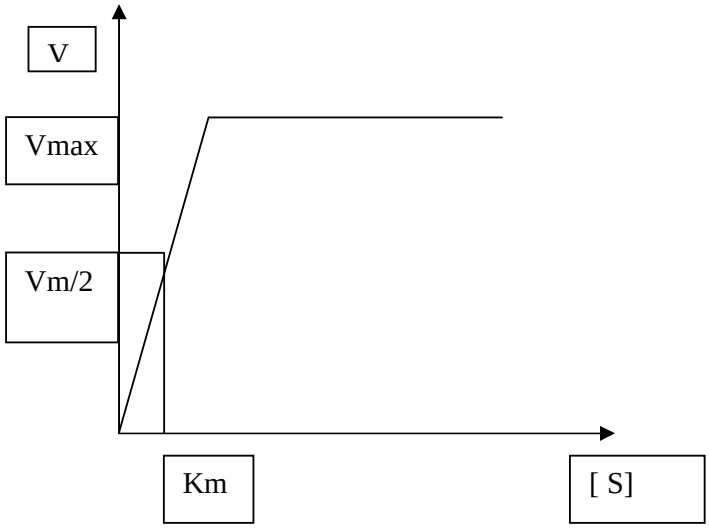
Abaterile de la liniaritate se datorează erorilor tehnice sau existenţei unui inhibitor ce acţionează numai la o anumită concentraţie.

2. Influenţa concentraţiei de substrat.teoria Michaelis-Menten

De exemplu să presupunem următoarea reacţie catalizată de enzimă:

$$E + S \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_3} E + P$$

Pentru enzimele michaeliene, dependenţa vitezei de reacţie de concentraţia de substrat este descrisă ca o hiperbolă, la o concentraţie de enzimă constantă.
Astfel viteza de reacţie creşte la început rapid şi liniar, după care dependenţa nu mai este liniară, iar la o anumită concentraţie de substrat curba tinde spre o valoare maximă.



$V_0 = Vmax = [S] / [S] + Km$

V - viteza iniţială de reacţie
Vmax – capacitatea catalitică maximă a enzimei – viteza maximă realizată
[S] – concentraţia de substrat
Km – Constanta lui Michaelis – Menten, reprezintă concentraţia de de substrat pentru care viteza de reacţie atinge jumătatea valorii maxime.
Dozările de activitate enzimatică se efectuează la concentraţii mari, saturante de substrat pentru a asigura o cinetică de ordinul zero.
Ecuaţia Michaelis-Menten este fundamentală în studiile de cinetică enzimatică, permiţând analiza cantitativă a majorităţii reacţiilor enzimatice. Pe lângă utilitatea la interpretarea mecanismului reacţiilor enzimatice şi a acţiunii inhibitorilor, cei doi parametri cinetici (Vmax, Km) au importanţă la determinarea de enzime, inclusiv în laboratorul clinic.

3. Inhibitorii enzimelor

Inhibiţia reprezintă scăderea parţială sau pierderea activităţii enzimatice ca urmare a legării de enzimă a unui compus numit inhibitor. Inhibiţia poate să fie un proces reversibil sau ireversibil.

a. Inhibiţia reversibilă

În cazul inhibiţiei reversibile inhibitorul se combină cu enzima sau cu complexul ES, iar prin îndepărtarea inhibitorului activitatea enzimei se restabileşte.

$$E + I \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} EI$$

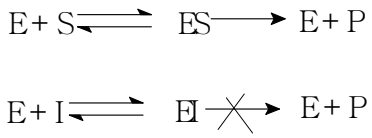
$$Ki = \frac{[E]\,[I]}{[EI]}$$

$$ES + I \overset{Ki}{\rightleftharpoons} ESI$$

Eficienţa unui inhibitor se măsoară prin Ki. Cu cât valoarea Ki este mai mică cu atât inhibitorul este mai efficient.
Inhibiţia reversibilă este de două tipuri competitivă şi necompetitivă.

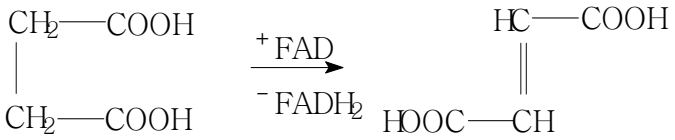
Inhibiţia competitivă

În cazul inhibiţiei competitive inhibitorul intră în competiţie cu substratul pentru acelaşi loc de legare la situsul activ al enzimei.



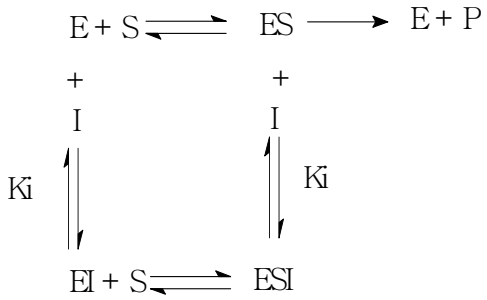
$$K_i = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

În cazul inhibiţiei competitive inhibitorul este un analog structural al substratului.
Exemplu:



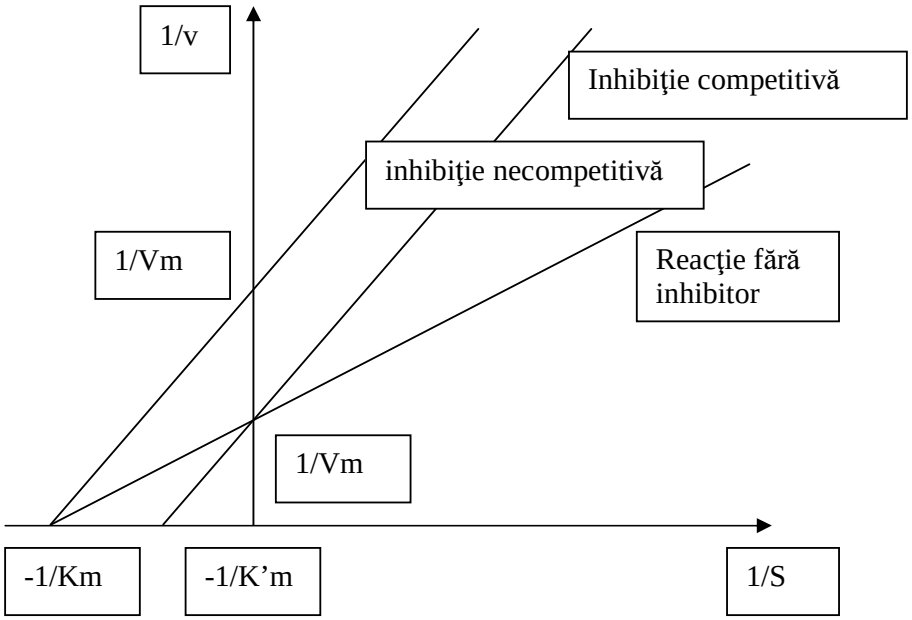
Enzima **succinat dehidrogenaza**, care catalizează această reacţie, este inhibată competitiv de analogi structurali, ca de exemplu: acid malonic, acid oxalilacetic, acid oxalic.
Aceşti acizi dicarboxilici se pot lega de centrul activ al enzimei la fel ca şi succinatul.

Inhibiţia necompetitivă are loc prin legarea inhibitorului la un loc diferit de centrul activ al enzimei, rezultând un complex ternar ESI. Inhibitorul poate interacţiona fie cu enzima liberă, fie cu complexul ES.



$$V'_{max} = \frac{V_{max}}{1 + [I]/K}$$

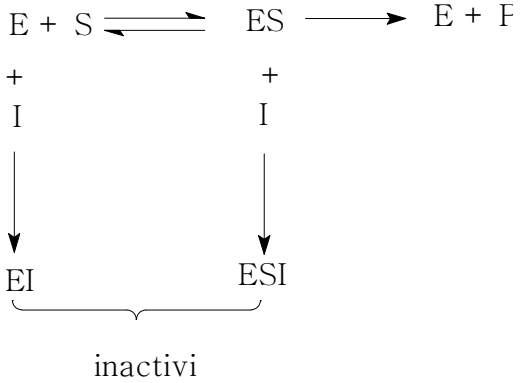
Pe de altă parte substratul se poate lega şi de complexul EI. Spre deosebire de inhibiţia competitivă efectul inhibitorului necompetitiv nu este influenţat de creşterea concentraţiei de substrat.



Un alt tip de inhibiţie reversibilă este **inhibiţia necompetitivă (incompetitivă)**, care are loc atunci când se formează complexul ternar ESI, ca urmare a interacţiunii I cu complexul ES, când are loc scăderea valorii Km şi Vmax.

b. Inhibiţia ireversibilă

Inhibiţia ireversibilă este consecinţa legării covalente a inhibitorului de enzimă sau de complexul ES, el neputând fi îndepărtat.



Capacitatea inhibitorului ireversibil este măsurată printr-o constantă de viteză care exprimă fracţiunea de enzimă inhibată într-o perioadă definită de timp la o anumită concentraţie de inhibitor.

Inhibitorii ireversibili sunt toxici, fiind numiţi şi otrăvuri enzimatice.

Exemplu: metalele grele, agenţii oxidanţi, organofosforicele, compuşi ai arseniului.

Semnificaţia şi importanţa practică a inhibiţiei enzimatice

1. Inhibiţia enzimatică este o modalitate importantă de control metabolic.
2. Unele toxice îşi exercită acţiunea datorită calităţii lor de inhibitori enzimatici ireversibili.
Exemplu: insecticidele
3. Inhibitorii enzimatici au aplicabilitate în toxicologia clinică, servind ca antidoturi.
Exemplu: etanolul este folosit ca antidot în intoxicaţiile cu metanol şi etilenglicol.
4. Utilizarea inhibitorilor în enzimologie pentru identificarea mecanismului de acţiune şi a

centrilor activi.

5. Inhibiţia enzimatică este un instrument terapeutic polivalent.

Exemplu: agenţii chimioterapici, antiinflamatoarele nesteroidiene.

4. Influenţa temperaturii asupra activităţii enzimatice

Viteza reacţiei enzimatice creşte odată cu temperatura, în intervalul în care enzima respectivă este stabilă, datorită creşterii energiei cinetice a reactanţilor. În multe procese biologice o creştere a temperaturii cu 10^0 C duce la dublarea sau triplarea vitezei de reacţie.

Temperatura optimă pentru majoritatea enzimelor este temperatura celulelor în care acestea se găsesc. Peste temperatura de 50 – 60^0 C majoritatea enzimelor sunt inactive. Excepţie fac unele microorganisme termofile ale căror enzime sunt active şi la 80^0C.

5. **Efectul pH-ului asupra activităţii enzimatice**.

Enzimele sunt stabile într-un domeniu relativ îngust de pH, domeniu în care se găseşte o valoare, numită pH optim, pentru care activitatea unei enzime este maximă.

Majoritatea enzimelor au pH-ul optim în jurul pH-ului fiziologic de 7,4.

Excepţii fac enzimele digestive pentru care pH-ul optim este cel acid, monoaminooxidazele din membrana mitocondrială externă care au pH optim aproximativ 10. Există unele enzime a căror activitate este independentă de pH (pepsina).

Reglarea activităţii enzimatice

Reglarea activităţii enzimatice este o componentă esenţială a procesului de control şi de coordonare a metabolismului, în directă legătură cu menţinerea homeostaziei.

Fluxul reacţiei enzimatice poate fi influenţat prin 3 mecanisme generale:

- variaţii în cantitatea absolută de enzimă
- modificarea fondului metabolic celular de substrate şi cofactori, condiţionate şi de transportul prin membrane
- schimbări în eficienţa catalitică a enzimelor.

Enzimele allosterice

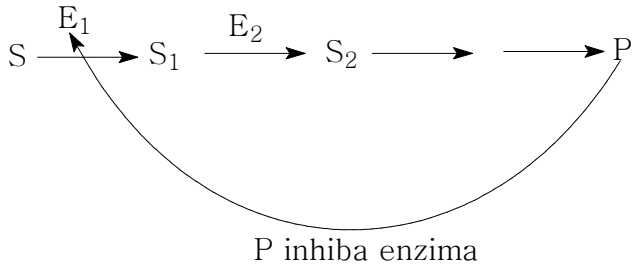
Enzimele allosterice sunt alcătuite din subunităţi care interacţionează în cursul procesului catalitic, fenomen ce se numeşte **cooperativitate**.

Activitatea acestor enzime este controlată prin legarea necovalentă a unor metaboliţi specifici în locuri distincte de centrul activ, locuri ce se numesc **centri alosterici**.

Deci, proteinele (enzimele) allosterice sunt oligomeri alcătuiţi din monomeri identici sau nu, aflaţi în număr par. Fiecare monomer posedă un centru activ şi locuri separate şi diferite de situsul activ numite **centri alosterici**.

O enzimă allosterică catalizează de obicei o etapă iniţială din secvenţa multienzimatică a unei căi metabolice. Reacţiile enzimelor allosterice sunt ireversibile sau cu grad redus de reversibilitate, reprezentînd astfel puncte de control pentru întregul lanţ de reacţii. Astfel, când produsul final al căii metabolice se acumulează peste concentaţia necesară, el funcţionează ca modulator negativ al enzimei. Acest efect se numeşte **inhibiţie prin produs final, inhibiţie feedback sau retroinhibiţie**.

Exemplu:



- aspartat transcarbamilaza, enzimă ce catalizează prima reacţie din procesul de sinteză a ribonucleotidelor pirimidinice.

Importanţa biomedicală şi farmaceutică

Enzimologia aduce un aport important atât în problemele de diagnostic cât şi în ceea ce priveşte terapia cu enzime.

I. Diagnosticul enzimatic

Diagnosticul enzimatic se bazează pe informaţiile furnizate de dozarea enzimelor din ser. Determinările enzimatice din hematii şi leucocite, precum şi din material bioptic sunt mai puţin abordate. Se mai urmăresc unele enzime şi în urină, suc gastric şi suc duodenal.

În funcţie de locul de producere şi modul în care ajung în sânge, enzimele serice se clasifică astfel:

9. **Enzime secretate activ**; se produc în ficat şi se eliberează în plasmă, unde îndeplinesc un anumit rol fiziologic.

Exemplu: lipoproteinlipaza, pseudocolinesteraza, lecitin –colesterol- acil- transferaza.

10. **Enzime ale secreţiilor exocrine**. Acestea se produc în diferite organe şi difuzează pasiv în plasmă.

Exemplu: amilaza salivară şi pancreatică, lipaza pancreatică, fosfataza acidă prostatică, fosfataza alcalină.

11. **Enzime celulare**. Aceste enzime se găsesc în plasmă în cantităţi de sute de ori mai mici decât în ţesuturi.

Exemplu: lactat dehidrogenaza, creatin kinaza, transaminazele.

12. **Enzimele inductibile**, sintetizate în exces ca răspuns la un agent imductor, şi ca atare îmbogăţesc plasma.

Exemplu: γ- glutamil transpeptidaza, enzimele de hidroxilare, glicuronozil-transferaza.

Izoenzimele

Izoenzimele sunt enzime ce îndeplinesc acelaşi rol catalitic, dar diferă prin proprietăţile structurale, fizice, chimice, cinetice şi imunologice.

Din punct de vedere structural sunt oligomeri alcătuiţi din subunităţi identice sau diferite.

Exemplu:

1. lactat dehidrogenaza prezintă 5 izoenzime LDH, care se deosebesc prin proporţia în care sunt distribuite. Cele 5 izoenzime rezultă prin combinarea difertă a 2 tipuri de lanţuri, notate cu H (subunitate de origine miocardică) şi M (subunitate ce provine din muşchi).

LDH_1 : H_4
LDH_2 : H_3M
LDH_3: H_2M_2
LDH_4 : HM_3
LDH_5 : M_4

Aceste enzime se dozează în studiul leziunii de organ şi anume în boli cu citoliză.

2. Creatin – kinaza prezintă 3 izoenzime, şi anume:

CK_1 : BB
CK_2. BM
CK_3 : MM
Aceste izoenzime sunt dozate în infarctul miocardic

Terapia cu enzime.

Pentru multe medicamente atât acţiunea principală cît şi efectele secundare sunt în legătură directă cu diferite activităţi enzimatice.

Enzimele sunt agenţi terapeutici unici ce produc efecte importante şi specifice.

Enzimele sunt introduse în terapie din aproximativ 1930.

Medicamentul enzimatic apare în diferite forme solide, soluţii buvabile, soluţii injectabile precum şi preparate destinate uzului local.

Terapia cu enzime este indicată în afecţiuni digestive şi boli genetice, boli cardio-vasculare, neoplazii sau ca medicamente antiinflamatoare în dermatologie, oftalmologie, ORL, reumatologie, afecţiuni bronşice.

Metode şi surse de obţinere a enzimelor terapeutice:

- Extragerea din diferite ţesuturi sau lichide biologice umane (placenta, sânge, urină) sau animală şi purificarea corespunzătoare.
- Culturi de celule mamifere sau bacterii din sol.
- Surse vegetale
- În ultimul timp tehnologia ADN-ului recombinat.

Exemplu: - streptokinaza, urokinaza, enzime ce se obţin prin biotehnologie. Aceste enzime reduc mortalitatea prin infarctul de miocard.

V. VITAMINE

Vitaminele sunt biomolecule indispensabile vieţuitoarelor pentru creşterea, întreţinerea troficităţii şi funcţiei ţesuturilor.

Organismul uman nu le poate sintetiza sau produce în cantităţi insuficiente. Vitaminele sunt necesare organismului în cantităţi mici de ordinul miligramelor sau mai puţin, cu excepţia vitaminei C care este necesară în cantităţi de aproximativ 75 mg pe zi.

Deci, vitaminele pot fi considerate factori esenţiali. Carenţa unei vitamine generează stări patologice, cu manifestări specifice.

Deficienţele vitaminice reflectă dezechilibru dintre aport şi necesităţi. Ele sunt cauzate:

Primar :

- prin lipsa de aport alimentar
- de afecţiuni digestive ce se repercută asupra absorbţiei
- datorită disbiozei pentru vitaminele ce sunt produse de flora intestinală, aceasta este afectată prin administrarea orală de antibiotice sau sulfamide.

Secundar :

- datorită cerinţelor crescute ce apar în anumite stări.

Necesarul pentru o vitamină sau alta depinde de:

- vârstă
- de starea fiziologică, de exemplu: sarcina
- de starea de sănătate
- efortul fizic
- temperatura ambiantă
- administrarea unor medicamente.

Stările carenţiale sunt numite **avitaminoze** (apar astăzi la populaţia malnutrită din ţările subdezvoltate) şi **hipovitaminoze,** cu manifestări policarenţiale.

Unele vitamine au provitamine, care sunt compuşi înrudiţi structural, inactivi sau slab activi, pe care organismul îi transferă în forma activă în forma activă de vitamină.

Au mai fost identificaţi şi alţi compuşi numiţi **antivitamine,** care sunt capabili să-i diminuie sau să-i suprime activitatea unei anumite vitamine. Unele antivitamine au utilizări terapeutice, dar prezină dezavantajul de a induce simptome carenţiale.

Clasificarea vitaminelor

Există o clasificare care are la bază criteriul solubilităţii în apă sau solvenţi nepolari. Astfel vitaminele se împart în:

- vitamine hidrosolubile: B_1, B_2, B_6, B_{12}, PP, acid folic, C, biotina, acidul pantotenic.
- vitamine liposolubile: A,D,E,K.

Unii autori admit şi o categorie de pseudovitamine care cuprind compuşi care au parţial trăsături de vitamine (vitaminoide). De exemplu:

- flavonoizii numiţi şi vitamina P
- acizii graşi esenţiali sau vitamina F
- mezoinozitolul
- colina

Mecanismul de acţiune al vitaminelor

Multe vitamine acţionează după o prealabilă biotransformare, iar altele rămân nemodificate şi funcţionează ca şi coenzime, participând la o multitudine de procese biochimice.

Alte vitamine ca de exemplu vitaminele A sau D folosesc căi de acţiune ce amintesc de mecanismele hormonale.

Vitaminele E sau tocoferolii funcţionează ca sisteme antioxidante faţă de agresiunea peroxidică.

Există, deasemenea şi modalităţi particulare de acţiune, cum ar fi de exemplu: retinalul şi acidul retinoic.

În general vitaminele prezintă şi un important rol catalitic.

Implicaţii terapeutice

În terapie, vitaminele sunt utile ca medicaţie specifică pentru combaterea sau profilaxia stărilor carenţiale. Preparatele pot să conţină o singură vitamină sau asocieri de vitamine. În doze terapeutice vitaminele sunt în general bine tolerate. Supradozarea poate provoca tulburări grave, numite **hipervitaminoze**, mai ales la vitaminele liposolubile, care sunt mai greu eliminabile.

Exemplu: - în literatură se semnalează că vitamina A ar prezenta risc teratogen, fiind astfel contraindicată în primele luni de sarcină.

În terapie se folosesc unii derivaţi vitaminici ca săruri, esteri, reprezentând forme optimizate sub raportul eficacităţii sau al posibilităţii de adminidtrare.

Vitaminele liposolubile

Vitaminele liposolubile sunt molecule apolare derivate din izopren. Ele sunt relativ stabile la temperatura operaţiilor culinare, dar uşor inactivate de radiaţiile UV şi substanţele oxidante.

Digestia şi absorbţia lor decurge în condiţii proprii lipidelor, cu participarea enzimelor specifice şi a bilei.

Ficatul poate depozita vitaminele A,D,K, iar vitamina E se acumulează mai ales în ţesutul adipos.

În circulaţia sanguină vitaminele liposolubile sunt vehiculate de către proteinele plasmatice.

Vitaminele liposolubile se elimină în bilă, urmează un circuit enterohepatic şi se excretă în fecale. Unii metaboliţi pot să treacă în urină.

Vitaminele A

Vitaminele A mai sunt cunoscute şi sub denumirea de retinoide.

Surse de Vitamina A

Vitamina A se găseşte în alimenţia carnală ca atare sau în produsele vegetale sub formă de provitamine.

Organismul uman nu poate sintetiza vitamina A, dar are capacitatea de a transforma provitaminele în forme active. Provitaminele A sunt pigmenţi de culoare galben-portocalie sau roşie.

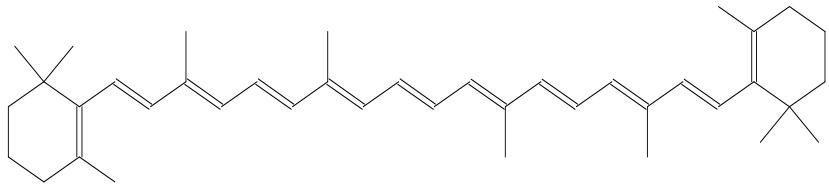
Structură

Pigmenţii vegetali au o structură polizoprenică formată din 40 de atomi de carbon şi au nişte inele ciclohexenil (cicluri iononice).

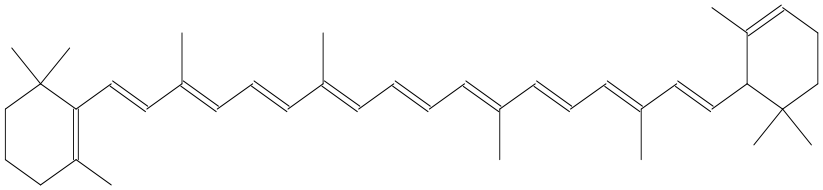
În grupa provitaminelor A intră hidrocarburi (caroteni) şi derivaţii lor oxigenaţi (xantofile, carotenoide).

Condiţia structurală obligatorie este prezenţa a cel puţin a unui nucleu β-iononic.

Exemplu:

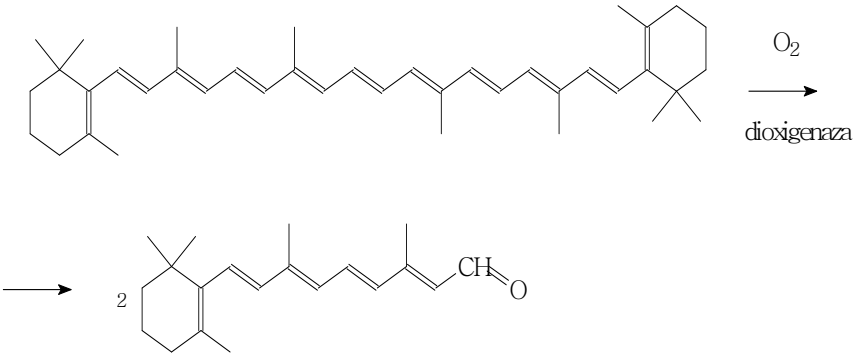


β - caroten



α – caroten

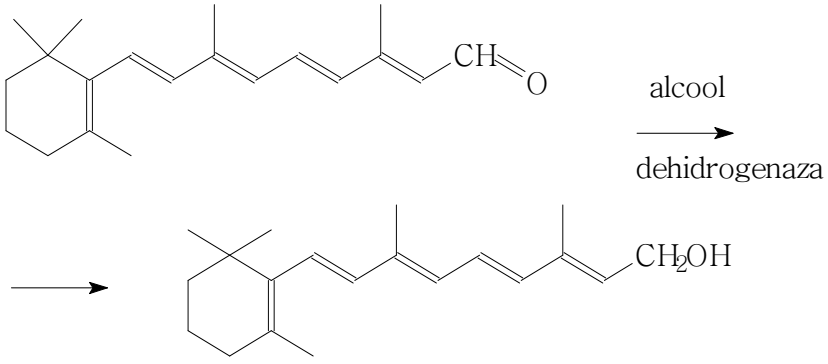
În mucoasa intestinală, β- carotenul suferă o scindare oxidativă a legăturii duble din poziţia 15 (proces enzymatic) în urma căreia se formează vitamina A_1 (retinalul).



vitamina A_1 (retinalul)

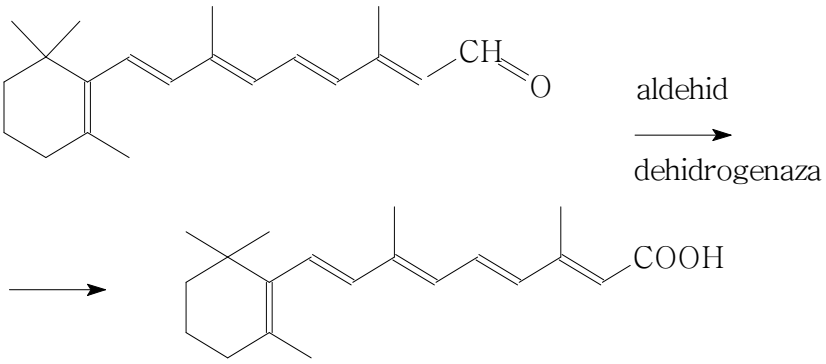
Tot în mucoasa intestinală mai au loc două transformări şi anume:

- reducerea grupării carbonilice la grupare alcoolică în prezenţa enzimei alcool dehidrogenazei sau retinol dehidrogenazei.



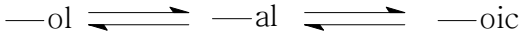
retinol

- oxidarea grupării aldehidice la acid carboxilic, în prezenţa aldehid dehidrogenazei, cu formare de acid retinoic.

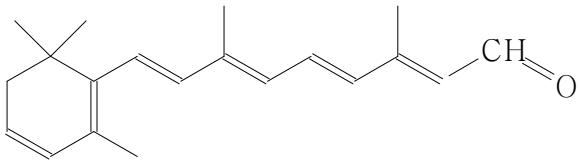


acid retinoic

Forma alcolică şi cea de aldehidă reprezintă formele de absorbţie intestinală. După absorbţie vitamina A se esterifică cu acizii graşi (acid palmitic) şi se depozitează în ficat. De acolo se mobilizează după necesităţi. Vitamina A este transportată de o proteină plasmatică specifică la ţesuturile ţintă. Majoritatea ţesuturilor au capacitatea de a realiza conversia:

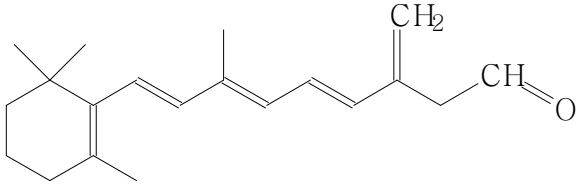


Se mai cunosc şi alte vitamine A, şi anume. A_2, A_3.



vitamina A_2 (3-dehidroretinal)

Vitamina A_2 se găseşte sub 3 forme, şi anume: 3- dehidroretinal , -ol şi –oic şi se găseşte în ficatul peştilor.



Vitamina A_3
În cazul vitaminei A_3 are loc deplasarea legăturii duble din poziţia 13-14 în poziţia 13-20.
Toate cele trei forme ale vitaminei A_1 (retinol, retinal şi acid retinoic) sunt active biologic, dar sunt inechivalente ca acţiune.
Acidul retinoic

Acidul retinoic este capabil să întreţină dezvoltarea şi diferenţierea diferitelor ţesuturi. Acidul retinoic participă în biosinteza glicoproteinelor, datorită capacităţii sale de a proteja pielea şi mucoasele (acţiune epitelotropă) şi măreşte rezistenţa organismului la infecţii.

Retinolul

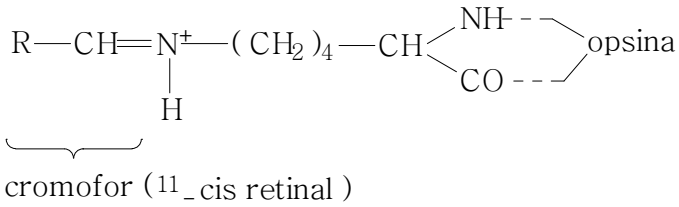
În celula ţintă retinolul este captat de o proteină specifică citoplasmei, diferită de cea serică şi îl translocă în nucleul celulei, unde este preluat de o proteină nucleară. Se presupune că vitamina A sub forma alcoolică acţionează asemănător hormonilor. Retinolul influenţează funcţia de reproducere, acţionând asupra hormonilor.

Retinalul

Retinalul participă direct în procesul vederii, fiind elementul cromofor al tuturor pigmenţilor vizuali conţinuţi în celulele fotoreceptoare din retină. Celulele fotoreceptoare din retină conţin două tipuri de celule ca formă: bastonaşe şi conuri.

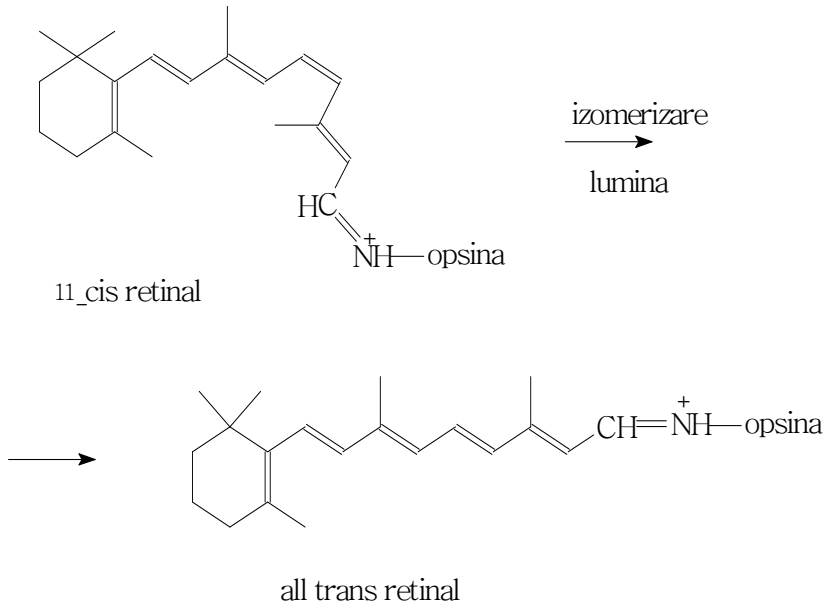
Pigmenţii vizuali sunt instrumente moleculare ale vederii. Ca structură sunt cromoproteine, proteine complexe formate din proteina propriu-zisă plus o grupare micromoleculară colorată.

Celula bastonaş este implicată în procesul vederii şi este formată din două segmente, şi anume unul extern şi unul intern. Segmentul extern este format din aproximativ 1000 de discuri ce conţin pigmenţi vizuali de tipul rodopsinei. Rodopsina este o cromoproteină formată din două componente: o parte proteică, numită **opsina** şi cromoforul, care este izomer al vitaminei A: **– 11-cis retinalul**. Cele două componente sunt legate printr-o legătură de tip bază Schiff ce se realizează între funcţia carbonil a cromoforului şi funcţia ε- aminică a unui rest de lizină din structura opsinei.



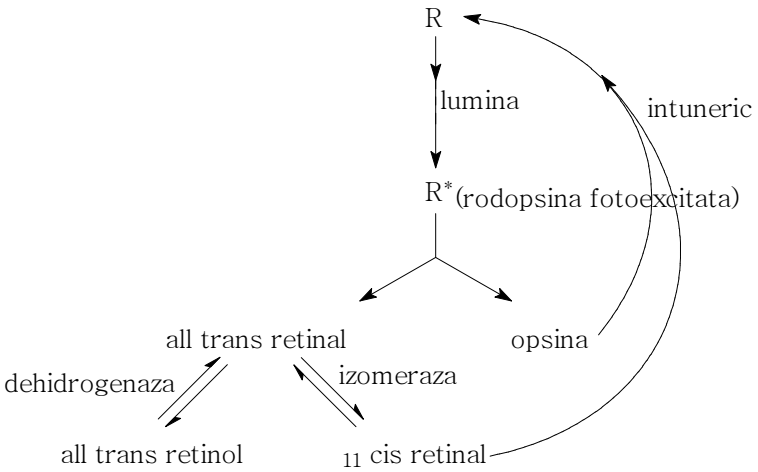
Rodopsina are capacitate mare de a absorbi lumina, ceea ce face ca celula bastonaş să fie un receptor foarte sensibil, fiind necesară energia unui singur foton pentru a fi fotoexcitată.

Rodopsina face parte dintr-un sistem senzor. Fenomenul primar al procesului de excitare vizuală este izomerizarea 11-cis retinalului din structura rodopsinei, consecutivă absorbţiei luminii.



Prin izomerizare se schimbă geometria structurii polienice a rodopsinei, are loc o deplasare a legăturii aldiminice cu $5A^0$ în raport cu inelul β- iononic. Această deplasare va antrena structura

proteinei şi apar astfel modificări constante ale opsinei, modificări ce duc la desprinderea cromoforului de opsină. Procesul de fotoliză a pigmentului are loc în etape care se succed cu viteză foarte mare. Rodopsina activată va declanşa o serie de interacţiuni în cascadă care explică fenomenul de excitaţie vizuală.



Procesul de excitare vizuală.

Carenţa de viatmina A îmbracă diverse forme.

La nivelul ochilor:

- se instalează tulburări funcţionale, scăderea acomodării în lumină crepusculară, apar dificultăţi în vedere.
- Pot să apară leziuni ale conjunctivei (xeroftalmie)
- Obstrucţia canalelor vasculare, cheratomalacie, suprainfectare cu Bacillus xerosus

La nivelul pielii:

- apar leziuni trofice ale epidermei şi mucoasei

Tot în carenţă de vitamina A pot să apară tulburări ale creşterii şi sterilitate.

Supradozarea cu vitamina A duce la hipervitaminoză, care se manifestă prin creşterea tensiunii intracraniene, cefalee, prurit, hepato-splenomegalie, descuamare cutanată, anorexie, iritabilitate.

În condiţii obişnuite necesarul zilnic de vitamina A este de 1,7mg pentru adult şi 1 mg pentru copii. El poate să crească în sarcină, lactăţie, pneumonie, nefrită.

Indicaţii

Vitamina A este indicată în special în: oftalmologie, dermatologie, dar şi în boli infecţioase febrile, boli renale, ciroze hepatice, hipertiroidism, diabet şi în pediatrie. În scop terapeutic se folosesc esterii de retinol şi anume: acetatul şi palmitatul.

Vitaminele D (calciferolii)

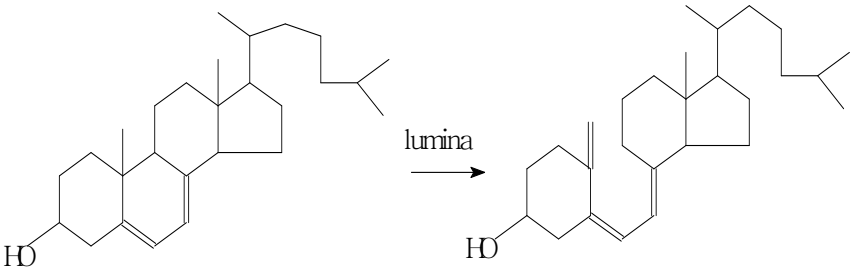
Prin origine, structură şi mod de acţiune vitaminele D se apropie mult de hormonii steroizi. Necesarul în raţia alimentară este evaluat în jur de 150 UI la adult, între 300- 500UI la copil, cu condiţia unui aport adecvat da Ca şi P. Necesităţile de aport exogen crescut sunt reclamate în sarcină, alăptare, la sugari şi la persoanele private constant de lumina solară.

Surse de vitamina D:

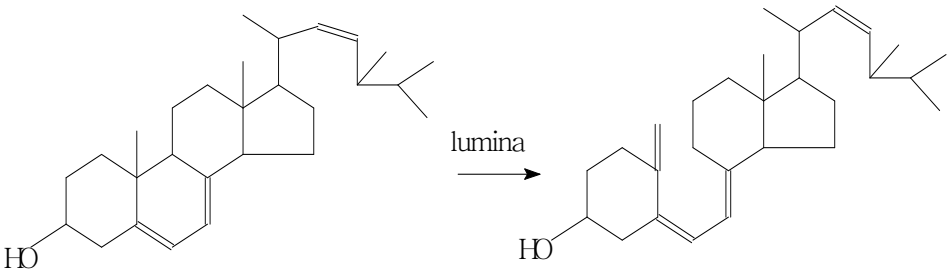
- din alimente sub formă de provitamine
- endogen prin biosinteză
- suplimentar sub formă de medicamente în caz de sarcină, la sugari, persoanele ce trăiesc şi lucrează mult în întuneric

Provitaminele D sunt compuşi sterolici cu 19 atomi da carbon în structura tetraciclică de bază. Conversia provitaminelor D în vitamine D este un proces fotochimic ce are loc sub influanţa radiaţiilor UV. Procesul are loc în etape cu deschiderea inelului B. Se cunosc 6 vitamine D, care se

notează de la D_2 la D_7. D_1 este considerat preparat impur de D_2.



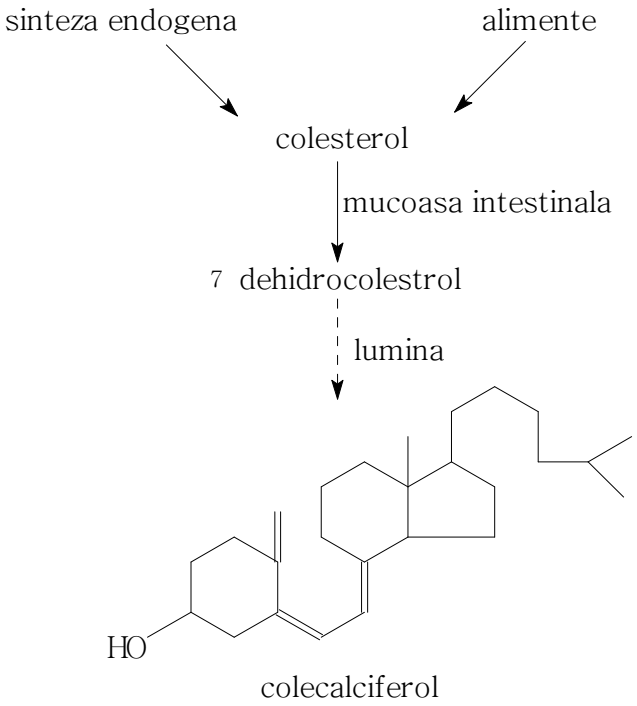
7- dehidrocolesterol colecalciferol (D_3)



ergosterol ergocalciferol (D_2)

Provitamina D_2 se întâlneşte în sclerotul de secară, S.cereviceae, ţesuturi animale.

Sursa endogenă de vitamina D

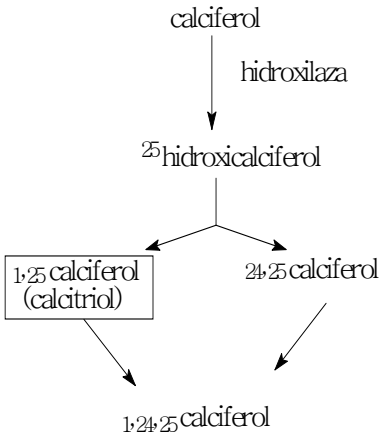


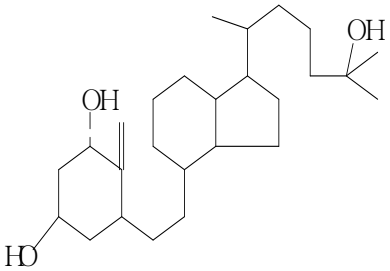
Prin acţiunea radiaţiilor UV 7-dehidrocolesterolul format în mucoasa intestinală şi depozitat în piele suferă un process de fotoliză neenzimatică, trecând în precolecalciferol, care se izomerizează spontan în colecalciferol. Transformarea este direct proporţională cu intensitatea expunerii şi invers proprţională cu gradul de pigmentare a epidermei. Procesul de conversie se diminuă cu vârsta. Calciferolii se absorb din intestinul subţire proximal.

Metabolismul vitaminei D

Vitamina D suferă un proces de hidroxilare la fel ca şi hormonii. Au fost puşi în evidenţă cca 20 de derivaţi hidroxilaţi. Astfel, în microzomii hepatici o hidroxilază specifică introduce gruparea hidroxil în poziţia 25. 25- hidroxicalciferolul sub acţiunea unui complex de trei enzime duce la hidroxilarea în poziţia 1, cu formare de 1, 25 calciferol sau calcitriolul, care este metabolitul cel mai activ, fiind considerat şi hormonul D.

Perturbarea procesului de obţinere a calcitriolilor duce la cauzele de producere a carenţei de vitamina D. Astfel, medicaţia antiepileptică (fenobarbital, fenitoina) administrată timp îndelungat induce enzime capabile să producă produşi hidroxilaţi preponderent inactivi.

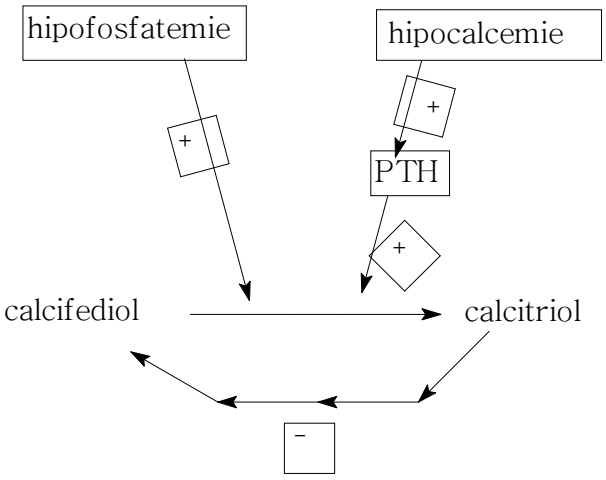

calciferol
hidroxilaza
25 hidroxicalciferol
1,25 calciferol
(calcitriol)
24,25 calciferol
1,24,25 calciferol


OH
OH
HO

calcitriol

Rolul biochimic al vitaminei D

Vitamina D alături de hormonul paratiroidian intervine în metabolismul Ca şi al fosfaţilor. Astfel, reacţia de hidroxilare a calcifediolului este stimulată direct de scăderea fosfatului şi indirect de scăderea calciului.



Calcitriolul îşi stopează propria sinteză prin mechanism feed-back. Calcifediolul s-a putut localiza în intestine, în ţesutul renal, osos; acestea find deci principalele ţesuturi ţintă a hormonului D.

Acţiunea biologică principală a hormonului D este de a facilita absorbţia intestinală de Ca şi fosfat. La nivelul tubilor renali produce retenţie de fosfaţi şi creşte sinergic cu PTH reabsorbţia Ca. În corelaţie cu PTH asigură concentraţiile sanguine optime de Ca şi fosfaţi, în vederea mineralizării normale a osului. După unele păreri, calcitriolul ar stimula sinteza de osteocalcină, o proteină transportoare de Ca, a cărei formare depinde şi de vitamina K. Acţiunea parathormonului şi a hormonului D este de a ridica nivelul de Ca în fluidul extracelular şi de a menţine sau scădea concentraţia de fosfat. Când există un deficit de Ca în os, creşterea calcemiei sub influenţa vitaminei D va produce inhibiţie feed-back a secreţiei PTH, permiţând mineralizarea. Dozele mari de vitamina D stimulează osteoclaştii şi mobilizează Ca din oase. Aceste mişcări ale Ca pot fi puse în legătură cu proteinele transportoare din celulele respective.

În concluzie, hormonul D este produs printr-o serie complexă de reacţii enzimatice şi neenzimatice, ce implică transportul moleculelor precursor la ţesuturi. În organele ţintă hormonul D acţionează după modelul hormonilor steroizi, interceptând în final un număr de procese biologice. Hormonul D are o contribuţie esenţială la homeostazia calciului. Acest bioelement este important nu numai în metabolismul osos, ci şi în excitabilitatea neuromusculară, stimulează producerea unor hormoni şi neurotransmiţători, intervine şi în procesul de coagulare.

Carenţa de vitamina D

Carenţa de vitamina D se manifestă în primul rând prin tulburări în metabolismul osos. La adult, demineralizarea osului provoacă osteoporoza, care evoluează spre osteomalacie. La copii, carenţa de vitamina D duce la apariţia rahitismului.

Semnele biuochimice sunt creşterea fosfatazei alcaline serice, hipocalcemia şi hipofosfatemia. Tabloul clinic al rahitismului include: deformări ale scheletului, modificări ososase vizibile radiologic, hipotonie musculară şi ligamentară, uneori spasmofilie. Deformările osului se instalează în primii ani de viaţă.

Exemplu:

- fontanela defectuos suturată, craniu ovalar, dentiţie întârziată, toracele cu sternul proiectat

înainte, bazin strâmtat. La maturitate apare bazin distocic, membrele inferioare se curbează, iar abdomenul devine voluminos.

Indicaţii

În terapie se utilizează vitaminele D_2 şi D_3, calcifediolul şi calcitriolul asociate cu preparate de Ca şi fosfat. La sugari se face profilaxie cu vitamina D. Există forme de rahitism, numite rahitism pseudocarenţial, rezistente la vitamina D. Aceste boli sunt congenitale, datorate incapacităţii transformării vitaminei D în calcitriol şi a absenţei receptorului pentru hormonul D.

Toate preparatele cu vitamina D sunt toxice prin supradozare, provocând mobilizarea Ca din os, osteoporoza, hipercalcemia, depuneri în ţesutul renal ducând la calculoza renală. La administrarea prelungită a vitaminei D se recomandă controlul nivelului de Ca şi fosfat din sânge.

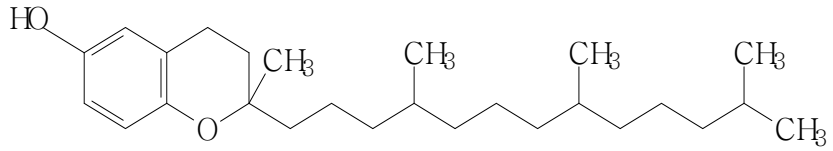
A fost obţinut un analog sintetic al vitaminei D , **compusul dihidrotachisterolul (AT_{10}, tachystin)**, prin hidrogenarea parţială a tachisterolului, unul din produşii secundari din procesul de fotoliză a provitaminei D. Acest compus este folosit la combaterea de urgenţă a tetaniei paratireoprive, datorită efectului rapid de corectare a hipocalcemiei.

Vitamina E (tocoferolii)

Vitamina E este cunoscută sub denumirea de vitamina antisterlităţii, deoarece este necesară pentru fertilitate la unele mamifere şi păsări. Denumirea de tocoferol vine din limba greacă ***tokos = a naşte, pherein = a purta*.** Vitamina E se găseşte exclusiv exogen în plantele verzi, uleiuri vegetale, alimente de origine animală, mai ales viscere.

Structura vitaminei E

Tocoferolii sunt derivaţi metilaţi ai nucleului, numit tocol. Se cunosc 4 tocoferoli naturali notaţi: α-, β-, γ-, δ- tocoferol. Compusul α posedă activitatea vitaminică cea mai marcată şi este cel mai larg răspândit.



tocol

α – tocoferol: 5,7,8 –trimetiltocol
β – tocoferol: 5,8 – dimetiltocol
γ – tocoferol: 7,8 – dimetiltocol
δ – tocoferol: 8 – metiltocol

Metaboliţii acestei vitamine nu se cunosc, neidentificându-se nici un metabolit activ.

Rolul biologic al vitaminei E

Vitamina E prezintă două funcţii biochimice:

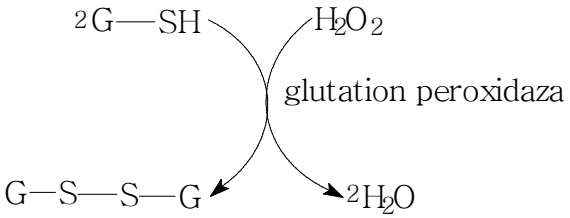
- una legată de calitatea sa puternic antioxidantă
- cealaltă privind metabolismul Se.

Vitamina E este un puternic antioxidant în vivo sau în vitro. Vitamina E este activă la presiuni mari de oxygen şi protejează astfel acizii graşi nesaturaţi, vitamina A, carotenii şi grupările tiolice ale enzimelor. Vitamina E este bine distribuită în membranele eritrocitelor şi ale celulelor din teritoriul arborelui respirator.

În vivo joacă un rol important în protecţia fosfolipidelor membranare, contribuind astfel la conservarea structurii celulare, faţă de agresiunea peroxidică a diverşilor agenţi.

Relaţia vitamina E – Se este una de reciprocitate. Rolul legat de Se este specific şi insuficient precizat. În ce priveşte Se, se arată că el este necesar pentru funcţionarea normală a pancreasului (digestia lipidelor şi deci a vitaminei E). Se contribuie la reţinerea vitaminei E în

lipoproteinele plasmatice. Se are o acţiune sinergică antioxidantă ca şi component al unei enzime numite **glutation – peroxidază**.



Necesarul de viatamina E este de 10 mg /zi, iar în sarcină şi alăptare ajunge la 15 mg/zi.

Carenţa de vitamina E

Stări de carenţă E se pot instala în cadrul sindromului de malabsobţie lipidică, cauzate de disfuncţia pancreatică, colecistopatii, boli inflamatorii intestinale, când se produce steatoree (pierderea de lipde în scaun). Până în prezent lipsesc dovezi sigure că vitamina E ar fi necesară funcţiei reproductive la om.

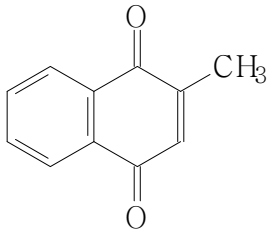
Carenţa se manifestă prin tulburări neurovegetative, apariţia de edeme, fragilitate eritrocitară, anemia hemolitică, care apare în special la nou-născuţii prematur.

Vitamina E se indică în sarcină şi alăptare, la prematuri, la vârstnicii cu tulburări de circulaţie periferică. În avort, sterilitate şi distrofii musculare eficienţa este îndoielnică.

Vitamina K

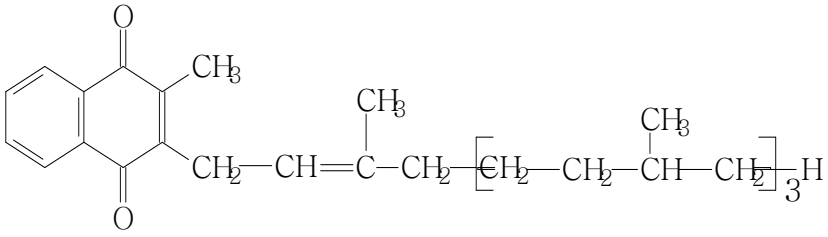
Vitaminele K naturale se găsesc în diferite alimente, ca: lapte, ou, uleiuri vegetale. Sursa majoră de vitamina K este flora saprofită intestinală (B.coli), astfel că în mod obişnuit nu este necesar aportul exogen.

Vitaminele K sunt derivaţi de 2- metal- 1,4-naftochinona. Compusul părinte este considerat vitamina K_3, numită şi menadiona.

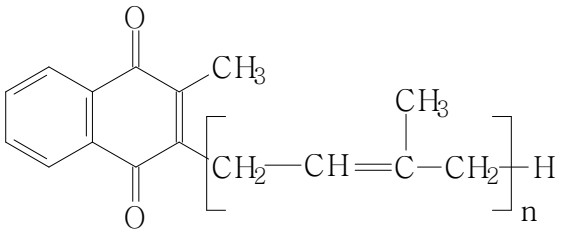


vitamina K_3 , menadiona

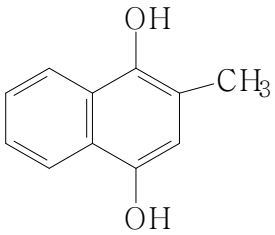
Se cunosc 7 vitamine K, dintre care: K_1……K_3 sunt liposolubile (vitamine naturale), iar K_4…..K_7 sunt hidrosolubile (vitamine de sinteză).



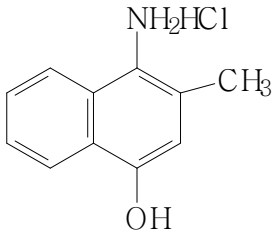
fitomenadiona , vitamina K_1



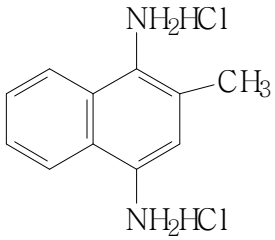
vitamina K_2 (n= 6,7,8)



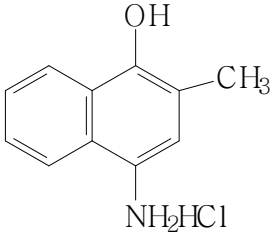
vitamina K_4



vitamina K_5

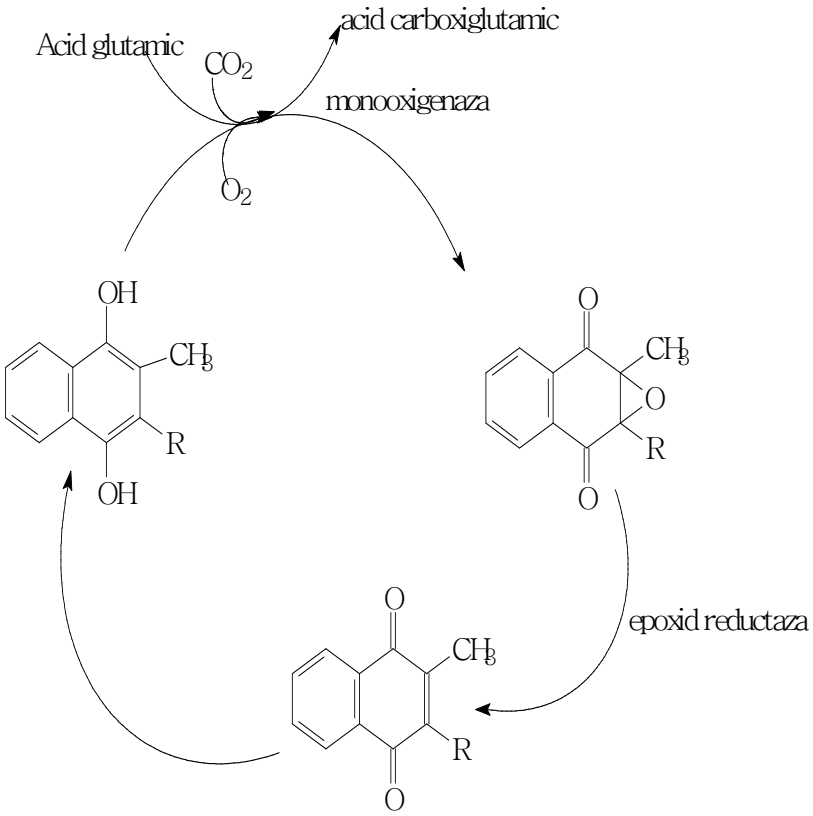


vitaminaK_6



vitamina K_7

Biotransformarea vitaminei K are loc în microzomii hepatici. Metabolitul cel mai activ al vitaminei K este derivatul hidrochinonic. Acesta suferă un proces de glicuronoconjugare, iar produşii rezultaţi se elimină pe cale biliară şi renală.



Acidul γ-carboxi- glutamic fixează calciul cu afinitate mare pentru glutamat, care este un chelator slab, permiţând interacţiunea specifică **proteină – Ca^{+2} – fosfolipide**, esenţială pentru procesul de coagulare.

Rolul biologic al vitaminei K

Vitamina K are rol în procesul de coagulare a sângelui. Vitamina K este esenţială pentru asigurarea nivelului optim pentru 4 din factorii coagulării sângelui: II, VII, IX, X. Aceşti factori sunt proteine care se sintetizează şi se eliberează în circulaţie sub formă de precursori inactivi: zimogeni (precursori enzimatici). Conversia zimogenilor la forme active este un proces vitamino – K – dependent.

Rolul biochimic al vitaminei K a fost pus în evidenţă prin experienţe cu antivitamine K. Astfel, s-a demonstrat că dicumarolul introdus în alimentaţia animalelor produce hemoragii letale, deoarece sângele acestor animale conţine o protrombină anormală, incapabilă să lege calciu, întrucât ea nu conţine resturi de acid γ-carboxiglutamic. Compuşii de tip cumarinic sunt folosiţi în terapia anticoagulantă, pentru tratamentul şi profilaxia afecţiunilor tromboembolice, acţionând asupra epoxid reductazei pe care o înhibă.

Carenţa de vitamina K

Deficitul de vitamina K se poate instala în sindromul malabsorbţiei lipidice, în boli hepatice, prin disbioza intestinală indusă de antibiotice sau sulfamide, abuz de laxative, tratament cu anticoagulante cumarinice, supradozare cu vitamina A. Carenţa de vitamina K duce la hemoragii, epistaxis, hemoragii subcutane, digestive, hematurie. Deasemenea carenţa de vitamina K poate să

mai apară în boala hemoragică a sugarului, la care intestinul este relativ steril, sistemul de sinteză hepatică a factorilor de coagulare este imatur, iar bariera placentară este greu accesibilă la vitamina K.

Terapia cu vitamina K

Vitamina K face parte dintre hemostaticele folosite sistemic în hemoragii de diverse etiologii.

Preparatele farmaceutice de vitamina K sunt: fitomenadiona, menadiona solubilă şi derivaţii săi hidrosolubili, menadion sodiu sulfat şi menadiol sodiu fosfat.

Fitomenadiona este lipsită de toxicitate, celelate fiind contraindicate la nou-născuţi şi sugari putând provoca anemie hemolitică şi hiperbilirubinemie.

Dozele terapeutice sunt mai mari decât cerinţa fiziologică, care este apreciată la 2 mg/zi.

Vitaminele hidrosolubile

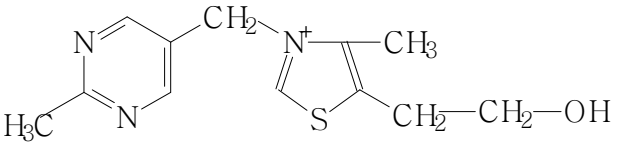
Vitaminele hidrosolubile sunt molecule polare cu structură chimică foarte variată. Ele se întâlnesc asociate în produse naturale ca: drojdia de bere, cortexul gramineelor, ficat. Din această cauză lipsa de aport prin alimentaţie provoacă stări de policarenţă şi nu o hipovitaminoză anume.
De exemplu: alcoolismul cronic produce policarenţa vitaminică B, cu preponderenţă a carenţei de vitamina B_1.
Vitaminele hidrosolubile se absorb în circulaţia portală, se stochează în cantităţi mici, eliminându-se cu uşurinţă pe cale renală.

Vitamina B_1

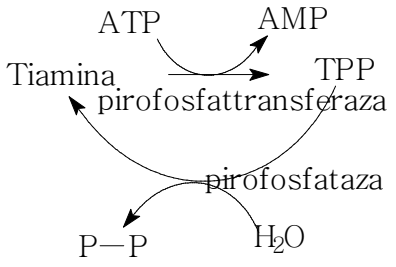
Vitamina B_1 se mai numeşte tiamina sau aneurina şi apare larg răspândită în ţesuturile vegetale şi animale, în drojdia de bere. Necesarul zilnic pentru un adult sănătos este de cca 2 mg/zi. Necesităţi crescute pot să apară în sarcină şi alăptare, în creştere şi în stări patologice ca boli nervoase, alcoolism, boli infecţioase.

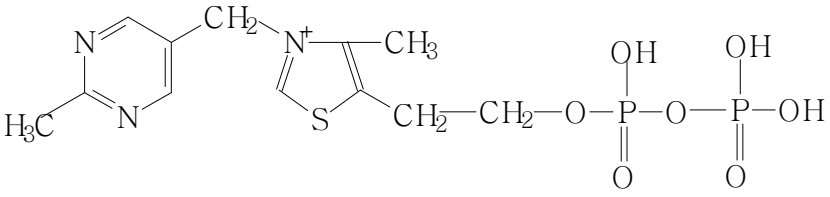
Structura

În structura moleculei de tiamină intră 2 nuclee heterociclice: unul pirimidinic şi unul tiazolic. Cele două nuclee sunt unite print-o punte metilenică.



Vitamina B_1 este uşor absorbită din intestine, în ţesuturi unde este fosforilată şi transformată în tiaminpirofosfat (TPP), care apoi poate fi hidrolizat cu eliminarea grupării pirofosforice.





TPP

TPP (cocarboxilaza) este forma metabolică activă, care serveşte drept coenzimă în reacţii ce transferă unităţi de aldehidă activată. Asemenea transferuri au loc în reacţia de decarboxilare oxidativă a α- cetoacizilor şi în reacţia de transcetolare. Ambele tipuri de reacţii sunt întâlnite în cadrul metabolismului glucidic. În aceste reacţii de transfer, rolul propriu-zis al coenzimei TPP este de a servi la eliberarea din anumite molecule a unităţilor aldehidice care urmează a fi transferate pe alte molecule.

Carenţa

Carenţa de tiamină apare atunci când cresc necesităţile. Sindromul tipic pentru carenţa de tiamină este cunoscut sub numele de boala **beri-beri. Sindromul beri-beri** prezintă 3 forme:

- *Beri-beri uscat (paralitic),* se manifestă prin atonie musculară, caşecsie, polinevrită periferică degenerativă.
- *Beri-beri edematos (umed),* care se manifestă prin tahicardie, cardiomegalie, dispnee, edem generalizat
- *Beri-beri difuz* , ce se manifestă cu dureri musculare de tip reumatismal, astenie.

Sindromul beri-beri rămâne cauza esenţială a mortalităţii neonatale în Asia de S-E. O altă formă de hipovitaminoză este **sindromul Wernicke**, care se manifestă cu fenomene de encefalopatie (afecţiune a sistemului nervos).

La alcoolici carenţa apare frecvent evoluând cu polinevrita, crampe dureroase ale membrelor inferioare, tulburări senzitive, apoi motorii.

Indicaţii

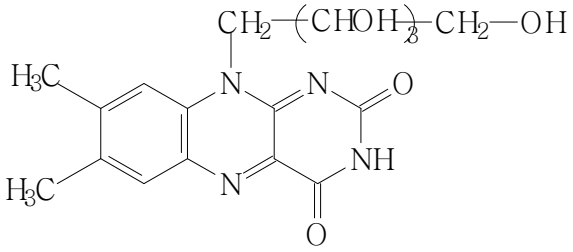
Vitamina B_1 este indicată în tratamentul stărilor carenţiale, în neurologie, reumatologie, alcoolism, boli infecţioase, diabet zaharat.

Vitamina B_2

Vitamina B_2 sau riboflavina este sintetizată de plante şi microorganisme. Ea se găseşte în cantităţi mari în: lapte, ou, ficat, legume verzi. Este relativ termostabilă, dar se descompune în prezenţa luminii.

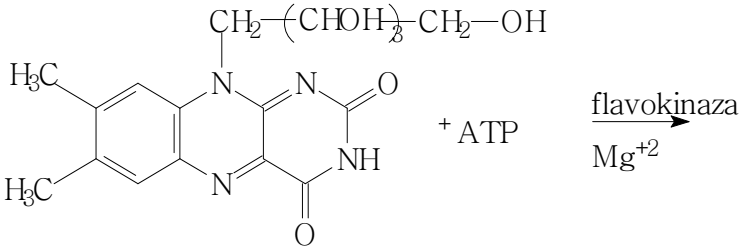
Structura

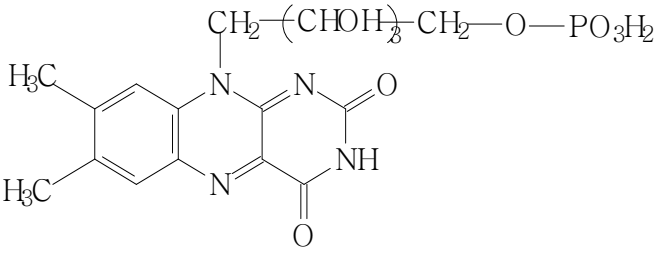
Riboflavina este reprezentată de nucleul izoaloxazinic substituit cu doi radicali metil în poziţiile 6 şi 7, şi cu un rest ribitil în poziţia 9.



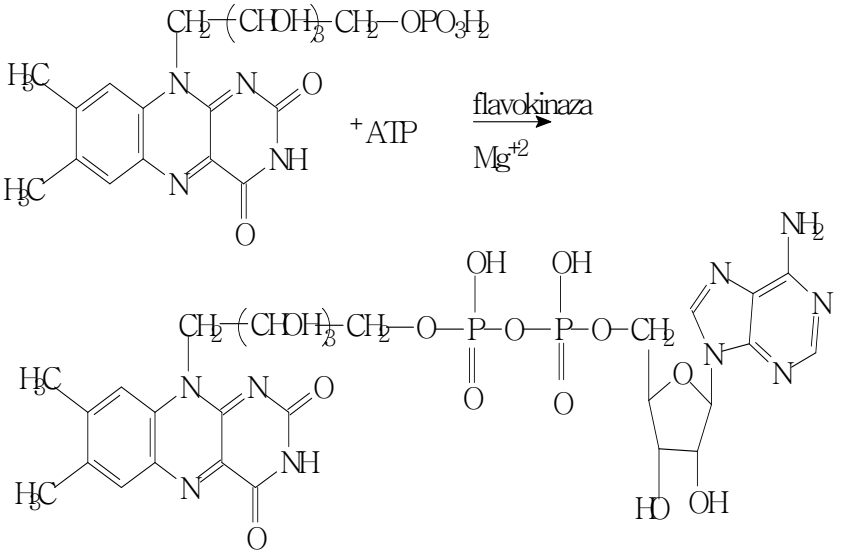
Riboflavina la nivelul mucoasei intestinale este fosforilată cu ajutorul mATP rezultând o structură ce aminteşte e un nucleotid, şi anume: FMN.

FMN reprezintă forma de absorbţie intestinală. În diferite ţesuturi, FMN este înglobat într-o structură mai complexă, prin legare de un rest de AMP, transferat de pe o moleculă de ATP cu formare de FAD.





FMN



FAD

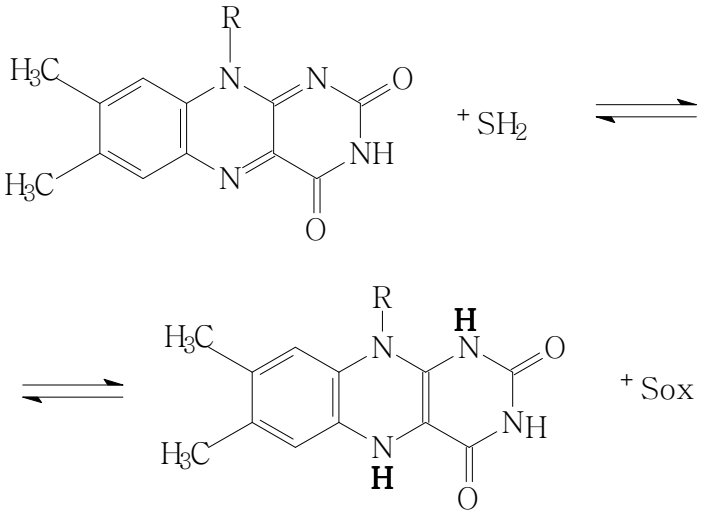
Dintre aceste două forme FAD reprezintă 80%, FMN – 20%, iar riboflavina liberă rămâne într-o proporţie neglijabilă.

Rol biochimic

Ambele flavin-nucleotide (FMN, FAD) sunt coenzime care fac parte din sisteme enzimatice implicate în diverse procese de oxido-reducere din organism. Datorită structurii coenzimelor respective, aceste enzime se mai numesc flavoenzime sau flavoproteine. În structura lor se remarcă o legătură strânsă (necovalentă) între coenzimă şi partea proteică. Deasemenea, majoritatea flavoproteinelor conţin metale cu rol de cofactori adiţionali, de aceea enzimele respective sunt cunoscute şi sub numele de metaloflavoproteine.

În reacţiile de oxido-reducere catalizate de flavoproteinele active, participantele directe la procesele redox sunt tocmai coenzimele constituente, FMN sau FAD. Astfel, ciclul izoaloxazinic

poate suferi reduceri reversibile prin fixarea temporară la atomii de azot din poziţiile 1 şi 10 a doi atomi de hidrogen preluaţi de la substratele cu care intră în reacţie şi care se oxidează.



În acest fel, FMN sau FAD trec din formele lor oxidate în formele reduse $FMNH_2$ sau $FADH_2$. Formele oxidate sunt pigmenţi galbeni, fluorescenţi, iar cele reduse apar ca leucoderivaţi. Aceste flavoproteine pot fi utilizate în oxidarea unor substrate ca: aminoacizi, amine, glucoza, etc.

Necesarul de vitamina B_2 este de aproximativ 1,5 mg în 24 de ore şi este acoperit din alimente şi prin aportul florei intestinale, astfel că o carenţă de B_2 este destul de rar întâlnită.

Carenţa

Când aportul de riboflavină este insuficient apar simptomele avitaminozei şi anume: ragade la colţurile gurii, leziuni ale buzelor, colorarea în roşu intens a limbii, oboseală oculară, dilatarea pupilei, sensibilitatea ochiului la lumină, modificări ale vascularizaţiei la nivelul corneei, tremurături, tulburări digestive, dificultăţi la urinare. Toate aceste simptome dispar prin includerea sistematică în alimentaţie a unor alimente bogate în vitamina B_2 sau prin administrarea de produse farmaceutice ce conţin riboflavină.

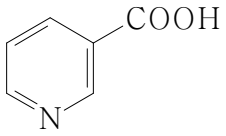
Indicaţii

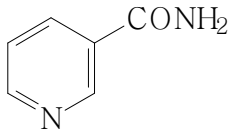
Vitamina B_2 este indicată în dermatologie, oftalmologie şi neurologie. Ea se administrează în asociaţie cu alte vitamine din grupul B.

Vitamina PP

Vitamina PP (niacina, nicotinamida, vitamina B_3) este vitamina antipelagroasă. Vitamina PP se sintetizează în plantele verzi şi la animale pornind de la triptofan. Ea se găseşte în cantităţi mari în: carne, legume şi cereale. Necesarul zilnic de vitamina PP este de cca 15 mg /zi.

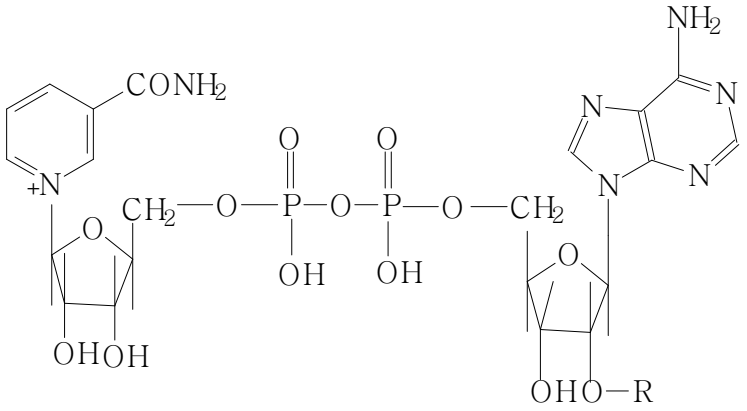
Din punct de vedere structural vitamina PP este acidul nicotinic.





acid nicotinic nicotinamida

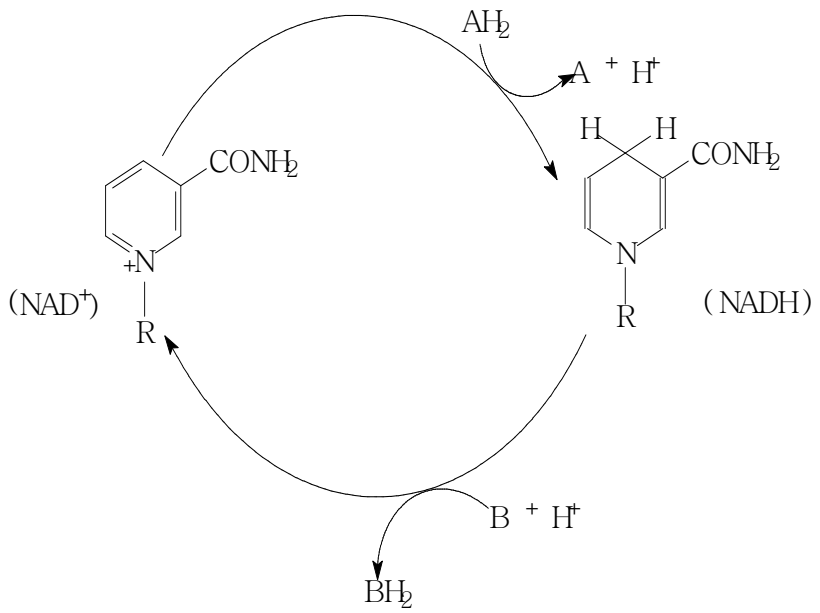
Vitamina PP este constituientul a 2 nuleotide ce reprezintă formele sale biologic active: NAD^+ şi $NADP^+$.



R : H = NAD

PO_3H_2 = NADP

În celulele animale NAD^+ este prezent în cantităţi mult mai mari decât NADP. Conţinutul de $NADP^+$ al ţesuturilor este proporţional cu activitatea lor biosintetică. NAD^+ şi $NADP^+$ au rol de coenzime şi servesc unor enzime de oxido-reducere, numite dehidrogenaze. Astfel NAD^+ este considerat principalul colector de hidrogen al substratelor.



Aceste reacţii implică transferal reversibil de perechi de atomi de H.

Rolul dehidrogenazelor piridinice:

- transfer de H şi electroni între substrate fie în reacţii cuplate aparţinând aceleaşi căi metabolice, fie între căi metabolice diferite.
- NADH oferă hidrogen în etapa finală a oxidării celulare reprezentat de lanţul respirator mitochondrial
- NAD^+ este principalul colector de H a substratelor. El funcţionează mai cu seamă în căile metabolice oxidative.

Enzimele NAD – dependente se mai numesc reductaze şi servesc în procese de hidroxilare ce privesc substanţe endogene şi xenobiotice.

Carenţa de vitamina PP provoacă **pelagra.**

Timp îndelungat pelagra a fost considerată ca o formă tipică de carenţă PP. Ulterior s-a constatat că pelagra este o stare policarenţială cauzată prin absenţa aportului de viatamina PP şi B_6, precum şi de triptofan. Ea apare la populaţii malnutrite, mai ales consumatoare de porumb, din care lipseşte triptofanul şi proteinele cu valoare biologică ridicată. Pelagra mai poate să apară şi secundar în cazul sindromului de malabsorbţie, al sindromului carcinoid, când o cantitate mare de triptofan este sustrasă biosintezei de acid nicotinic, la alcoolici, în aminoacidurii (ca boala Hartnup) şi sub tratament cu izoniazidă.

Pelagra se manifestă printr-o erupţie caracteristică pe pielea expusă soarelui, care devine atrofică, aspră şi fisurată, prin inflamaţia mucoaselor digestive (stomatite, glosite, enterite). Simptomelor dermice li se asociază şi tulburările de tranzit, diaree apoasă, uneori sanguinolentă, tulburări ale SNC, insomnie, confuzie, delir, comă, tulburări hematologice şi de circulaţie periferică.

Utilizarea în terapeutică

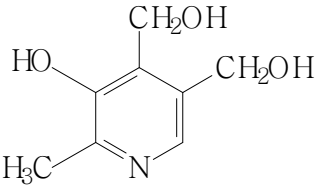
Preparatele cu vitamina PP corectează eficient o bună parte din simptome, începând cu cele digestive şi mai târziu cu dermatita. Pentru administrare se preferă nicotinamida. Acidul nicotinic poate să producă fenomene adverse chiar şi în doze terapeutice.

Administrarea cantităţilor mai mari de niacină (până la 100mg /zi) nu determină fenomene de toxicitate. Cantităţile excesive provoacă însă prurit, roşirea pielii şi, în general, modificări circulatorii deoarece vitamina PP determină dilatarea lumenului vaselor sanguine.

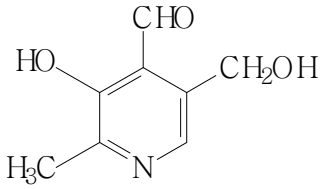
Vitamina B_6

Vitamina B_6 , numită şi piridoxina sau adermina, apare sub trei forme biologic active interconvertibile. Vitamina B_6 se găseşte în principal în grâne, ficat, drojdie, legume verzi şi în cantităţi mici în lapte şi ouă.

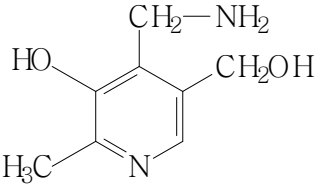
Din punct de vedere structural are la bază nucleul piridinic, substituit.



piridoxina

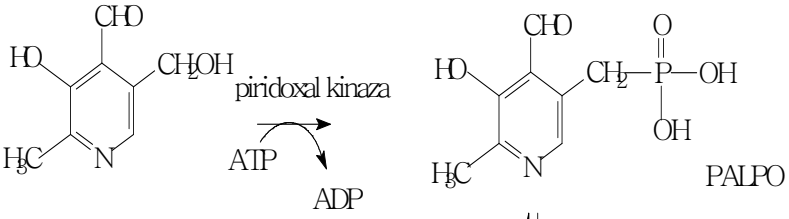


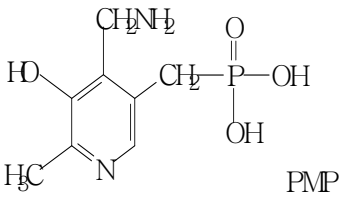
piridoxal



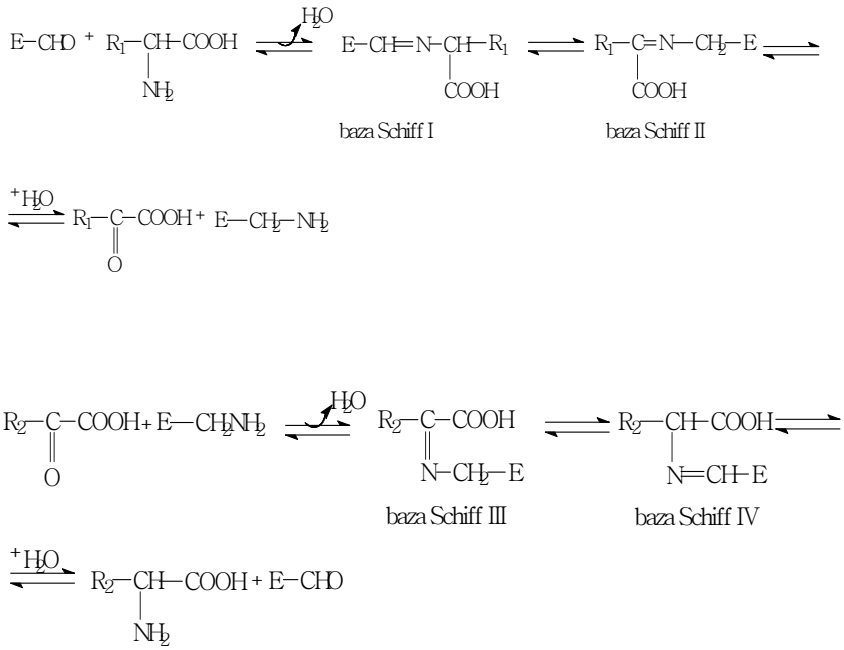
piridoxamina

Piridoxina şi analogii săi se absorb din intestine. În citoplasma celulelor derivaţii vitaminei B_6 sunt fosforilaţi la gruparea alcoolică din poziţia 5, rezultând piridoxal-fosfatul (PALPO).





PALPO şi PMP (piridoxaminfosfat) sunt formele active ale vitaminei B_6. Ele funcţionează ca şi coenzime în metabolismul aminoacizilor. PALPO intervine în procesul de transaminare a aminoacizilor.



Deci, într- un proces de transaminare are loc transferul funcţiei aminice de pe un aminoacid pe un alfa- cetoacid acceptor, astfel că aminoacidul donor devine alfa- cetoacid, iar alfa-cetoacidul acceptor devine aminoacid.. În cursul procesului catalitic are loc transformarea reversibilă a PLP în PMP.

Vitamina B_6 este foarte bine răspândită în rândul produşilor alimentari, astfel că o alimentaţie normală şi aportul florei intestinale acoperă necesităţile de vitamina B_6 în condiţii obişnuite. Astfel stările carenţiale de vitamina B_6 de origine nutriţională apar foarte rar la om. Principalele manifestări ale carenţei de vitamina B_6 sunt dermatita seboreică, polinevrita, apariţia de convulsii (în special la sugari), anemia. Anemia apare ca urmare a perturbării etapelor iniţiale din biosinteza hemului.

Alte posibilităţi de instalare a deficienţei de vitamina B_6 sunt: alcoolismul cronic, sarcina, insuficienţa renală şi unele boli genetice. Deasemenea, unele medicamente, ca: izoniazida (HIN), cicloserina, penicilamina, contraceptivele orale, administrate timp îndelungat pot să inducă carenţa de vitamina B_6.

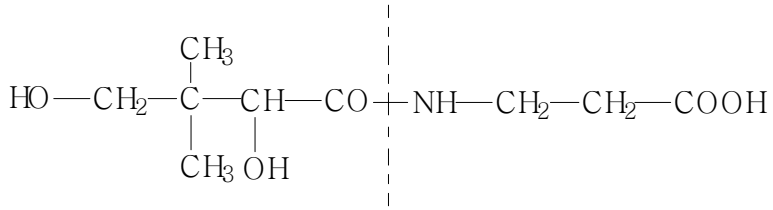
Necesarul de vitamina B_6 este în jur de 2 mg/zi la adult. Aportul excesiv poate determina efecte toxice pe sistemul nervos.

Acidul pantotenic (vitamina B_5)

Acidul pantotenic poartă acest nume pentru că este foarte mult răspândit în ţesuturile vegetale şi animale. El este vitamină pentru om, dar şi factor de creştere pentru microorganisme.

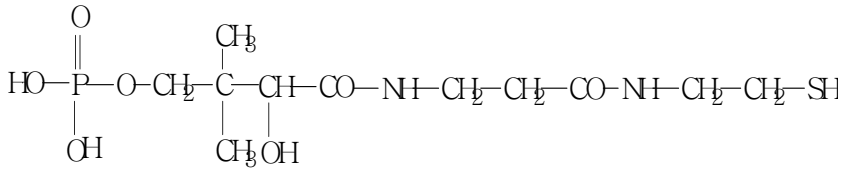
Cele mai bogate surse de acid pantotenic sunt: drojdia de bere, boabele cerealelor, gălbenuşul de ou, carnea. În organism acidul pantotenic provine şi prin sintetizarea sa de către flora bacteriană intestinală.

În structura acidului pantotenic intră acidul pantoic şi β-alanina legate printr-o legătură amidică.

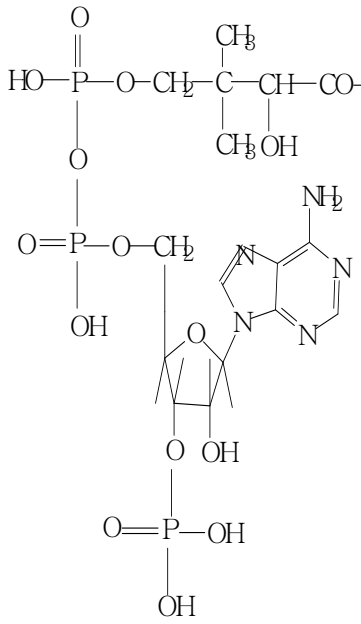


acid pantoic beta-alanina

Acid pantoic este absorbit uşor în intestine, şi apoi fosforilat în poziţia γ a acidului pantoic, urmând astfel o cale metabolică prin care este transformat în 2 cofactori enzimatici : fosfopantoteina şi coenzima A.



fosfopanteina



Coenzima A

După cum se observă coenzima A are o structură nucleotidică ce include fosfopantoteina de care este legat un rest adenilic fosforilat în poziţia 3 a ribozei. Fosfopantoteina serveşte ca grupare prostetică transportoare de radicali acil, numită Acyl – carrier – Protein (ACP). ACP face parte dintr-un system multienzimativ implicat în procesul de biosinteză a acizilor graşi.

Coenzima A este deasemenea implicată în diverse reacţii enzimatice din diferite căi degradative sau biosintetice cum ar fi: oxidarea acizilor graşi, decarboxilarea oxidativă a alfa-cetoacizilor, degradarea aminoacizilor, în procesul de iniţiere a ciclului Krebs, în biosinteza diferitelor lipide, precum şi în procesele de acetilare a unor compuşi endogeni sau xenobiotici (de ex. acetilarea HIN).

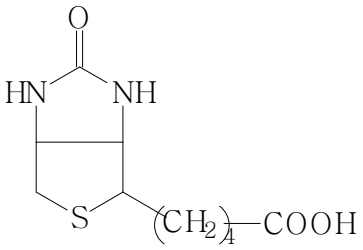
Coenzima A se leagă de resturile acil prin intermediul funcţiei tiolice, formând astfel

tioesteri macroergici de tipul : R- CO- SCoA.
Formarea legăturilor macroergice presupune consum de energie, care poate să fie cedată de ATP.

Alimentele pot să ofere cantităţi mari de acid pantotenic, astfel încât nu a fost semnalată carenţa spontană. Deficienţa specifică s-a putut induce experimental prin administrare de antagonişti. Simptomele sunt variate: digestive, predispoziţie la infecţii, crampe musculare, modificări cutanate, hipoglicemie, depresii nervoase.
Deficitul de pantotenat alături de cel al vitaminei B_6, acizilor graşi esenţiali şi de proteine contribuie la instalarea steatozei hepatice. Acidul pantotenic este indicat în stări de policarenţă B.

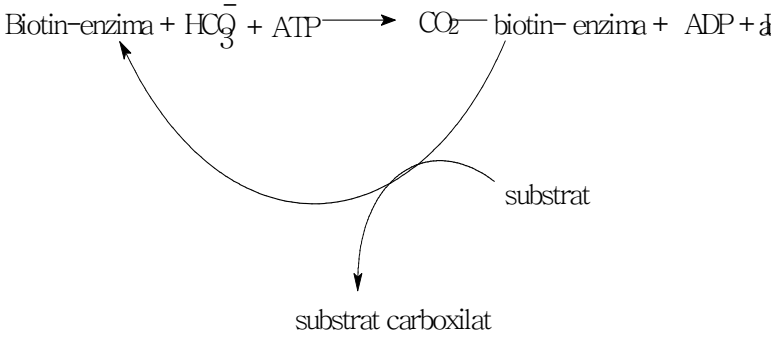
Biotina (Vitamina H)

Biotina este un derivat imidazolic cu structură biciclică care conţine ca lanţ lateral un rest de acid valerianic la β-biotina sau izovalerianic la α-biotina.



În natură, biotina se găseşte liberă sau combinată fie cu lisina (biocitina), fie cu proteine. În intestin biotina este eliberată de biotinază pancreatică şi absorbită printr-un proces activ Na-dependent.

Biotina funcţionează ca grupare prostetică pentru enzimele ce catalizează reacţiile de carboxilare, servind astfel drept cărăuş pentru CO_2 activat.



Astfel, biotin-enzima încarcă gruparea carboxil pe biotină rezultând carboxi-biotin-enzima, care transportă gruparea carboxil pe un substrat acceptor.
Exemle de enzime biotin-dependente:

- piruvat carboxilaza, care catalizează carboxilarea piruvatului la oxalil-acetat.
- acetil- CoA carboxilaza, care catalizează formarea malonil- CoA.

La om necesarul de biotină este de 150- 300 μg pe zi şi este în mare măsură asigurat de flora intestinală. Cantităţi suficiente se găsesc alimentaţia carnată, gălbenuş, cereale şi legume.

Carenţa provocată experimental se manifestă prin dermatită seboreică, anorexie, oboseală,

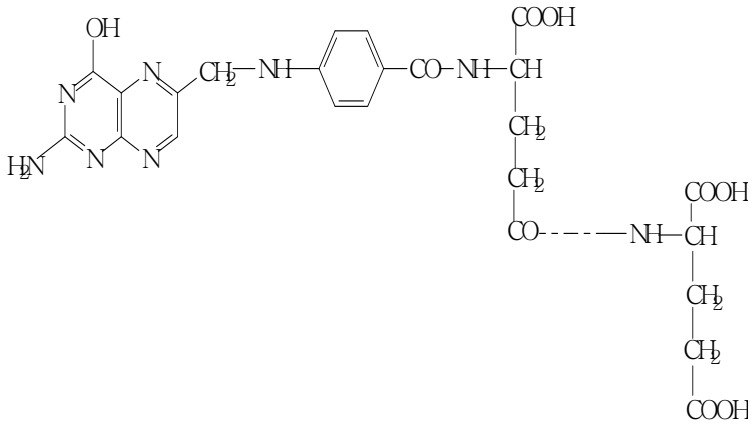
insomnii, parestezii. Stări carenţiale se cunosc la sugarii cu deficit genetic privind enzima responsabilă de ataşarea biotinei la componenta carboxilazică. Semnele clinice sunt:cetoza metabolică, cu creşterea lactocidemiei şi o eliminare anormală de acid propionic în urină.

În terapie, biotina este de obicei inclusă în preparatele polivitaminice.

Acidul folic (folacina)

La fel ca şi alte vitamine din complexul B, acidul folic este factor de creştere pentru microorganisme. Denumirea de acid folic se datorează faptului că prima substanţă descoperită din acest grup de vitamine a fost izolată din frunze de spanac şi s-a dovedit că are caracter acid.

Din punct de vedere structural acidul folic conţine în structura sa acid pteroic şi un lanţ γ-glutamil peptidic.



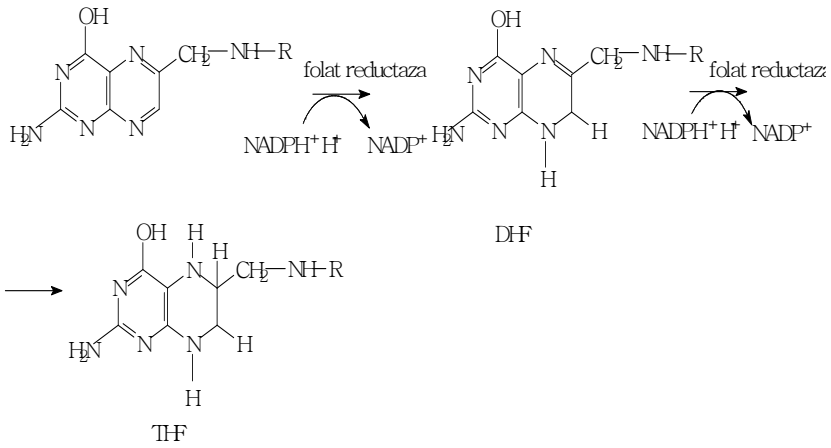
Acizii folici pot să fie:

- acizi pteroil monoglutamic
- acizi pteroil poliglutamici

La plantele există sub formă de complex heptaglutamic, iar în ficat predomină conjugatul pentaglutamic. Spre deosebire de plante şi microorganisme, organismul animal este incapabil să sintetizeze acid pteroilmonoglutamic.

În intestine acizii pteroil poliglutamici sunt hidrolizaţi cu enzime specifice rezultând derivatul monoglutamic, care se absorbe în circulaţia mezenterică. În celulele intestinale acidul folic este în mare parte redus la THF (FH_4). Aproximativ 2/3 din folatul absorbit se leagă de proteinele plasmatice.

Hidrogenarea acidului folic sub acţiunea folat-reductazei NADPH-dependente are loc în 2 etape, intermediar formându-se DHF.



THF reprezintă metabolitul activ şi serveşte drept coenzimă în reacţiile de transfer sau interconversiunea grupărilor cu un C, numite şi fragmente C_1 active. Donorii de grupări C_1 active sunt: serina, histidina, acidul formic.

Acidul folic participă la biosinteza nucleotidelor şi a acizilor nucleici, care au un rol important în biosinteza proteinelor. Deasemenea acizii folici controlează procesul de creştere şi hematopoeza.

Organismul uman este dependent de aportul de folat furnizat de legumele cu frunze şi carne. Acidul folic nu rezistă la temperatura de preparare culinară. Necesarul zilnic este de 400 μg, care creşte în sarcină şi alăptare, în sindroame de malabsorbţie intestinală la alcoolici, la bolnavii cu anemie hemolitică sau cancer cu evoluţie rapidă.

Carenţa poate fi indusă medicamentos prin administrare de antifolice sau la tratament îndelungat cu: fenobarbital, fenitoina, primidona, care cresc nevoia de folat.

Deficienţa folică acută cuprinde manifestări digestive şi dermice. Carenţa cronică se caracterizează prin tulburări de creştere, dereglări de hematopeoză ce conduc la anemia megaloblastică, leucopenie, trombocitopenie.

Acidul folic se administrează ca biostimulator general, ca factor antianemic în diferite forme de anemie, mai ales macrocitară, în leucopenia secundară, chimio- sau radioterapia bolii maligne. Acidul folic este contraindicat persoanelor peste 60 de ani deoarece poate stimula un process neoplazic latent. Uneori acidul folic se asociază cu vitamina B_{12} sau cu preparate pe bază de fier.

Antifolice (Antagonişti folici)

Antifolicele sunt substanţe care se aseamănă structural cu acidul folc şi sunt inhibitori ai unor enzime implicate în biosinteză.

Multe antifolice şi-au găsit aplicabilitate terapeutică.

Exemple:

- Sulfamidele şi sulfonele sunt utilizate ca antibacteriene şi interferează inserarea PAB în structura acidului folic, acţionând asupra dihidropteroat sintetazei, care catalizează etapa intermediară în sinteza de folat.
- Trimetoprimul este inhibitor al folat reductazei
- Metotrexatul este folosit în leucemie şi psoroazis.

În tratamentul îndelungat cu antifolice apare o carenţă folică. Carenţa poate fi compensată prin administrare de acid folinic, care se administrează oral sau parenteral sub formă de folinat de Ca.

Vitamina B_{12}

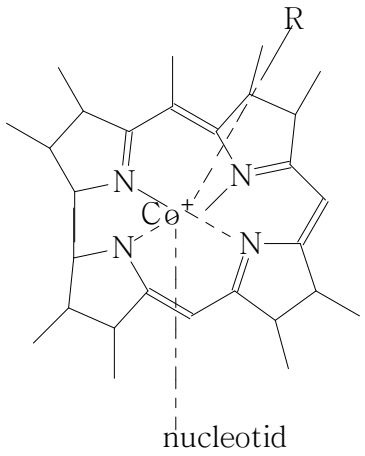
Vitamina B_{12} sau ciancobalamina îndeplineşte rol de vitamină pentru om şi este factor de

creştere pentru microorganisme. Poartă indicele 12 deoarece este al 12-lea compus izolat din complexul B.

Din punct de vedere structural vitamina B_{12} are o structură foarte complexă. Asfel, ea conţine o parte internă,reprezentată de un schelet tetrapirolic numit **corrina.** Nucleul corinic din partea centrală diferă de cel al hemului prin următoarele elemente:

- în centru se află ionul Co^+
- sistemul tetrapirolic este mai saturat
- două nuclee pirolice sunt unite direct între ele
- are un număr mai mare de substituienţi, majoritatea lor cu grupări amidice.

Deasemenea vitamina B_{12} mai conţine şi o parte externă reprezentată de un nucleotid cu riboză. El este unit prin două legături cu regiunea centrală: una direct între unul din atomii de N ai benzimidazolului şi ionul monovalent de cobalt, iar a doua legătură se realizează prin intermediul restului de acid fosforic al nucleotidului cu riboză şi o catenă ataşată la unul din cele patru nuclee pirolice.



R: CN^-, OH, CH_3

Vitamina B_{12} este sintetizată exclusiv de către bacterii anaerobe, dar se găseşte şi în ţesuturile animale, mai ales în ficat. Absorbţia ei este mediată de receptori specifici din ileum, după prealabila cuplare cu un factor intrinsec (CASTLE). Acesta este o glicoproteină cu specificitate absolută pentru vitamina B_{12}, secretată de celulele parietale din mucoasa gastrică. După desprindere de factorul intrinsic cobalamina trece în circulaţia portală, unde se leagă de o proteină plasmatică transportoare, numită trancobalamina II.

În ţesuturi se eliberează ca hidroxicobalamina, fiind apoi transformată în metilcobalamină.

Ficatul stochează cantităţi de ordinul mg, pentru lungi perioade, graţie legării de o altă proteină, numită transcobalamina I.

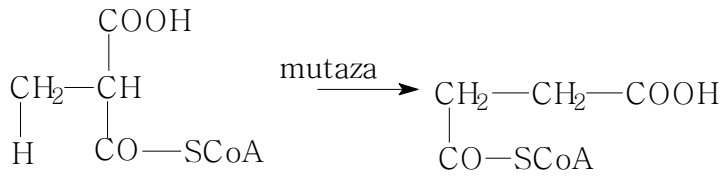
Funcţiile biochimice ale vitaminei B_{12}

Enzimele cobalaminice funcţionează în metabolimul grupărilor cu un C, fiind întâlnite în 3 tipuri de reacţii:

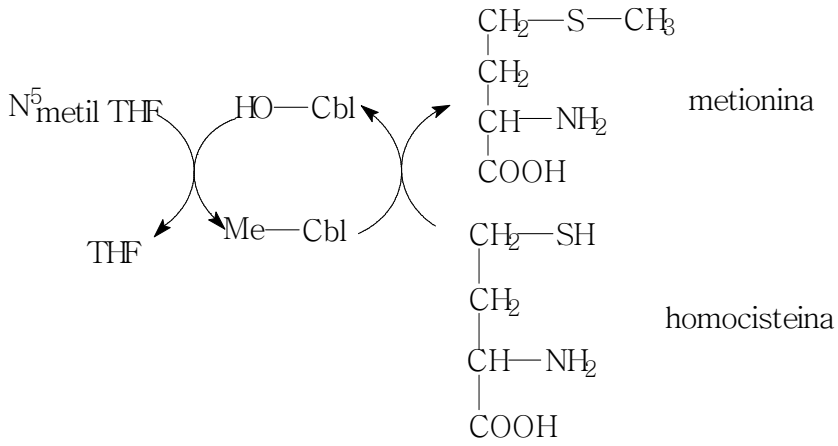
2. reacţii de rearanjament intramolecular
3. reacţii de metilare
4. reacţii de reducere a ribonucleotidelor la dezoxiribonucleotide.

În ţesutul mamiferelor se cunosc două procese dependente de cobalamine:

- izomerizarea metal-malonil CoA la succinil CoA



- transformarea homocisteinei în metionină



Deficitul de cobalamină se repercută negativ asupra sintezei de metionină, cu consecinţe privind biosinteza proteică şi regenerarea de THF.

Vitamina B_{12} este esenţială alături de folat, pentru creşterea şi maturarea celulelor, mai cu seamă a celor cu ritm intens de proliferare. Deasemenea cobalamina este necesară pentru funcţia măduvei hematogene, a aparatului digestiv şi a sistemului nervos.

Prin participarea la sistemul metioninei este un factor lipotrop, protejând ficatul de încărcarea cu grăsimi.

Carenţa cobalaminică apare rar, deoarece alimentaţia carnală oferă necesarul (cca 10 mg/zi), existând avantajul termostabilităţii. Cauza principală este absenţa factorului intrinsec datorită incapacităţii mucoasei gastrice de a-l produce în afecţiuni gastrice, rezecţii sau constituţional prin defect genetic de sinteză, ori prin mecanism autoimun.

Carenţa este rar provocată prin lipsă de aport, în regim exclusiv vegetarian prelungit, în sindrom de malabsorbţie intestinală, după tratament cu neomicină, metformin, antiepileptice, în disbioză intestinală.

Maladia produsă în carenţa de vitamina B_{12} este **anemia pernicioasă (anemia Biermer).** Clinic aceasta se manifestă prin: paloare, astenie (sindrom anemic), inapetenţă, greaţă, emeză, balonări, tulburări de transit (sindrom de transit), neuropatie.

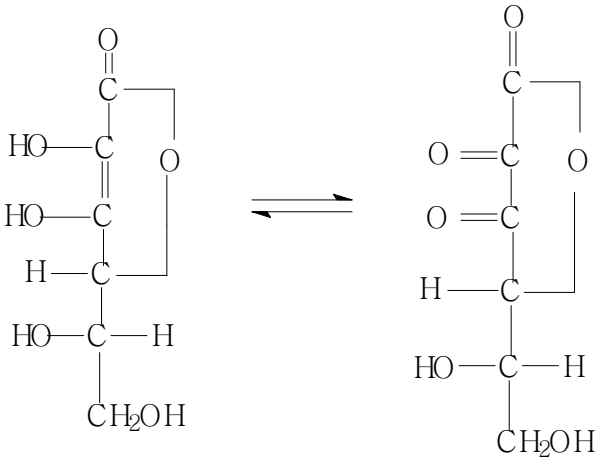
Anemia biermeriană face parte dintre anemiile megaloblastice, majoritatea cauzate prin deficienţa vitaminei B_{12} şi/sau a acidului folic, ce determină perturbări în sinteza acizilor nucleici, implicând suferinţa tuturor sistemelor celulare. Apare astfel hematopoeza ineficientă cu deviaţie megaloblastică, consecinţa fiind producerea insuficientă a elementelor liniilor celulare ale sângelui şi în special a seriei roşii. Astfel în sângele periferic se evidenţiază: pancitopenia, megalocitoza, magaloblastoza, celule cu alte modificări morfologice, fragile. Diagnosticul diferenţial în anemia megaloblastică se face prin dozarea cobalaminei în plasmă, prin testarea absorbţiei intestinale, administrarea de vitamina B_{12} marcată şi măsurarea radioactivităţii în urină.

În anemia pernicioasă tratamentul începe cu doze de atac de vitamina B_{12}, parenteral, care pe măsura ameliorării simptomelor se reduce la doze de întreţinere administrate cu intermitenţă toată viaţa. Alte indicaţii ale viatminei B_{12} sunt în : neuropatii, ciroză, hepatite, stări de malnutriţie.

În terapie se folosesc ciancobalamina şi hidroxicobalamina.

Vitamina C

Vitamina C poartă şi numele de acid ascorbic deoarece este o substanţă cu caracter acid, iar carenţa sa în organism provoacă scorbut. Din punct de vedere structural vitamina C este numită şi lactona acidului 2,3-dienol- L- gulonic. Structura sa este extrem de labilă prin expunere la aer, iar în soluţii alcaline trece în acid dehidroascorbic. Ambele forme sunt active şi apar în ţesuturi.



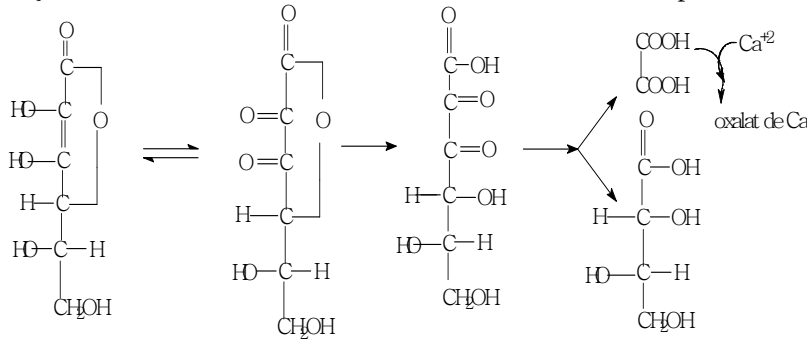
acid L ascorbic acid L dehidroascorbic

Transformarea acidului L-ascorbic în acid L-dehidroascorbic poate fi efectuată de L-ascorbat oxidaza, enzimă ce conţine Cu.

Vitamina C este una din cele mai răspândite vitamine, fiind sintetizată de majoritatea speciilor vegetale şi animale din glucoză. Excepţie sunt primatele, cobaiul şi alte câteva specii, posesori ai unor enzimopatii genetice, fiind incapabili să efectueze etapa finală din lanţul metabolic de biosinteză, adică conversia L-gulono-lactonei în acid ascorbic.

Acizii ascorbic şi dehidroascorbic se absorb aproape în totalitate în intestin şi se distribuie extra- şi intracelular. La un aport adecvat rezervele satisfac necesităţile câteva luni consecutive lipsei de alimentaţie. Dozele foarte mari de vitamina C saturează depozitele şi depăşeşte pragul renal de eliminare. Deci dozele mari de vitamina C sunt excretate urinar, astfel că administrarea excesivă este inutilă.

În ţesuturi vitamina C este transformată în mică măsură prin oxidare.



acid L ascorbic acid L dehidroascorbic acid 2,3 diceto gulonic acid L treonic

Vitamina C se elimină urinar, în proporţie mare netransformată, cantitatea de acid ascorbic excretată normal fiind până la 1%. Oxalatul de calciu poate însă precipita în căile renale cauzând litiaza oxalică.

Rolul vitaminei C

Acidul ascorbic are un potenţial reducător destul de mare, fiind astfel capabil să reducă oxigenul molecular, nitraţii, citocromii a şi c, methemoglobina.

Cuplul ascorbat-dehidroascorbat funcţionează ca sistem redox activ într-o serie de procese biochimice.

Exemplu:

- În reacţiile de hidroxilare din: - metabolismul aminoacizilor aromatici
  - – metabolismul prolinei, lisinei
  - – biosinteza noradrenalnei
  - –biotransformarea medicamentelor

Dozele mari de vitamina C stimulează absorbţia Fe, reducându-l la ion feros, forma favorabilă absorbţiei, iar concentraţiile fiziologice cresc încorporarea Fe în feritina. Se consideră că acidul ascorbic este necesar procesului de creştere, pentru integritatea tegumentelor, în buna funcţionare a aparatului cardiovascular. De asemenea i se atribuie un rol în procesul de apărare imunitară, în mărirea rezistenţei la efort, în hematopeoză.

Necesarul de vitamina C este de 1mg/kgcorp/zi la adultul sănătos şi este asigurat în primul rând de vegetalele proaspete, crude.

Cerinţele sunt crescute în sarcină, alăptare, frig, condiţii de muncă grea, boli infecţioase, cancer şi dependent de vârstă.

Carenţa este reprezentată de scorbut. Pot să apară stări de subcarenţă, în special la sfârşitul iernii. Se manifestă prin: tendinţa la hemoragii, în special gingivale, echimoze, hiperkeratoza foliculară, dureri articulare (osteoporoza), anorexie, tulburări de tranzit intestinal, anemie, astenie.

Acidul ascorbic este necesar formelor active ale unor enzime (dioxigenaze cu enzime), acţionând probabil prin menţinerea metalului la valenţa sa inferioară.

Indicaţiile vitaminei C sunt profilactice şi de corectare a simptomelor carenţiale, în boli infecţioase, în pediatrie, în methemoglobinemie, astenie, asociat preparatelor cu Fe.

Nu se cunosc efecte toxice, dar în caz de supradozare poate fi dăunătoare la subiecţii cu predispoziţie la oxaloză sau deranjează absorbţia unor vitamine ca: B_{12} sau a altor medicamente simultan ingerate.

VI. METABOLISM

Metabolismul reprezintă totalitatea transformărilor de substanţă, energie şi informaţie, care au loc într-un organism viu. Metabolismul general prezintă două aspecte esenţiale: catabolismul şi anabolismul.

Catabolismul reprezintă totalitatea reacţiilor de degradare din organism, iar aceste reacţii sunt frecvent procese de oxido-reducere, care au loc cu eliberare de energie. Energia eliberată este conservată sub forma legăturilor macroergice din ATP.

Energia înmagazinată în ATP este utilizată în procese de biosinteză a biomoleculelor, care sunt substanţe cu moleculă mare. Cu mare specificitate şi cu nivel înalt de organizare. Totalitatea proceselor de biosinteză din organism constituie *anabolismul.* Spre deosebire de procesele catabolice, procesele anabolice decurg cu consum de energie, fiind endergonice. Energia necesară proceselor de biosinteză este asigurată de hidroliza legăturii macroergice din ATP.

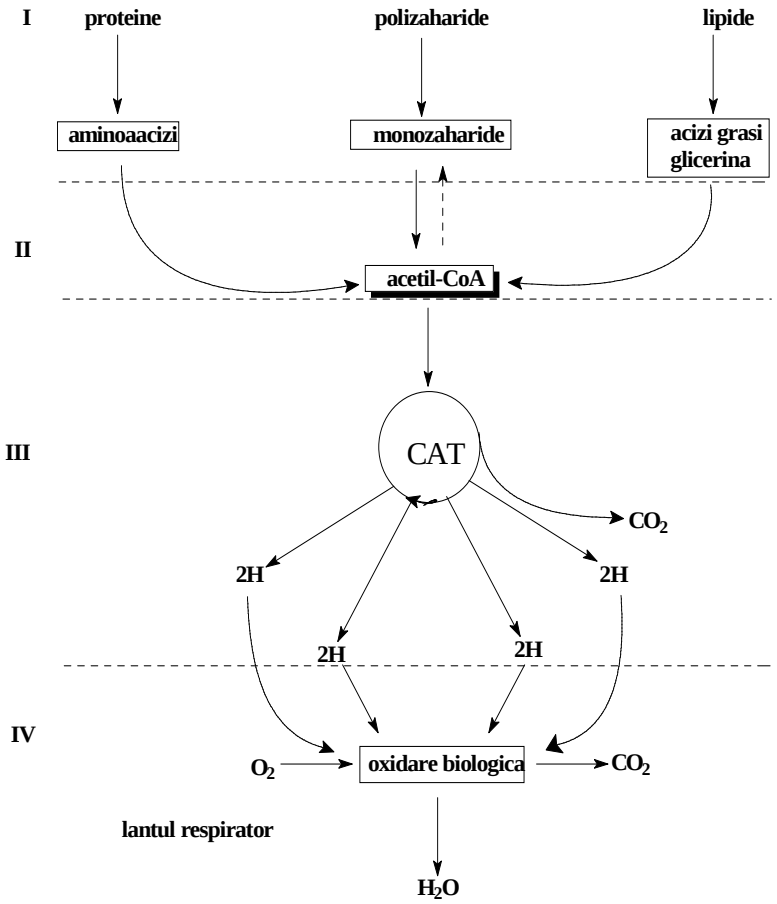
Pe lângă procesul cu caracter catabolic sau anabolic, în celule mai au loc transformări ale constituenţilor săi, care au concomitent atât caracter catabolic cât şi anabolic. Acestea se numesc procese amfibolice. În cadrul acestor procese pot rezulta compuşi care pot fi catabolizaţi sau care pot fi utilizaţi în procese de biosinteză.

Totalitatea transformărilor pe care le suferă anumiţi compuşi de la ingestia sau biosinteza lor până eliminarea lor din organism se numeşte *metabolism intermediar*. Degradarea constituenţilor organici fundamentali ai celulei vii (proteine, glucide şi lipide) se desfăşoară în mai multe stadii:

I. Moleculele mari a acestor compuşi sunt degradate cu eliberarea unităţilor lor structurale fundamentale;
II. Produşii rezultaţi în primul stadiu sunt transformaţi pe căi specifice într-un număr mic de molecule simple, printre care predomină acetil-CoA;
III. Compuşii rezultaţi în al doilea stadiu sunt transformaţi în dioxid de carbon şi apă pe o cale numită ciclul citratului;
IV. Echivalenţii de hidrogen preluaţi de la metaboliţii din stadiile anterioare sunt oxidaţi cu formare de apă prin intermediul lanţului respirator.

Stadiile I şi II sunt specifice pentru fiecare categorie de compuşi, iar stadiile III şi IV sunt caracteristice transformării glucidelor, lipidelor şi proteinelor.

Cea mai importantă cale de formare de dioxid de carbon în celulă este ciclul citric sau ciclul acizilor tricarboxilici sau ciclul lui Krebs.



CICLUL ACIZILOR TRICARBOXILICI

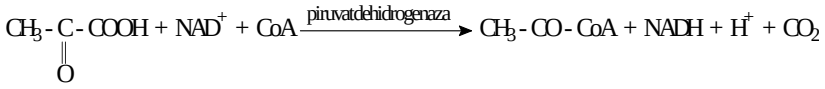
Respiraţia este procesul prin care celula aerobă obţine energie în urma oxidării moleculelor de combustibil de către oxigenul molecular. Ciclul acizilor tricarboxilici este calea metabolică centrală cea mai obişnuită pentru degradarea resturilor de acetil-CoA rezultate prin catabolizarea glucidelor, acizilor graşi şi aminoacizilor. Ciclul acizilor tricarboxilici este o secvenţă ciclică, care are loc în toate celulele aerobe. Se mai numeşte şi ciclul acidului citric sau ciclul lui Krebs. Această secvenţă de reacţii este catalizată de un sistem multienzimatic care primeşte gruparea acetil de la acetil-CoA drept combustibil şi o descompune în dioxid de carbon şi echivalenţi reducători. Aceştia sunt apoi conduşi printr-un lanţ de proteine transportoare de electroni la oxigen, care este redus pentru a forma apă.

Din schema prezentată mai sus se constată că acetil-CoA rezultată în urma procesului de catabolizare a principalelor biomolecule, intră în ciclul acizilor tricarboxilici. În unele cazuri, însă, în

urma procesului de catabolizare a acestor biomolecule nu rezultă acetil-CoA, ci piruvat. Piruvatul ca să poată intra în ciclul acizilor tricarboxilici trebuie să se transforme, în prealabil, în acetil-CoA.

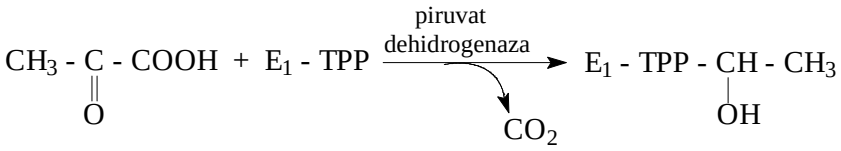
Oxidarea piruvatului la acetil-CoA.

Oxidarea piruvatului la acetil-CoA este un proces complex catalizat de complexul multienzimatic piruvatdehidrogenază.

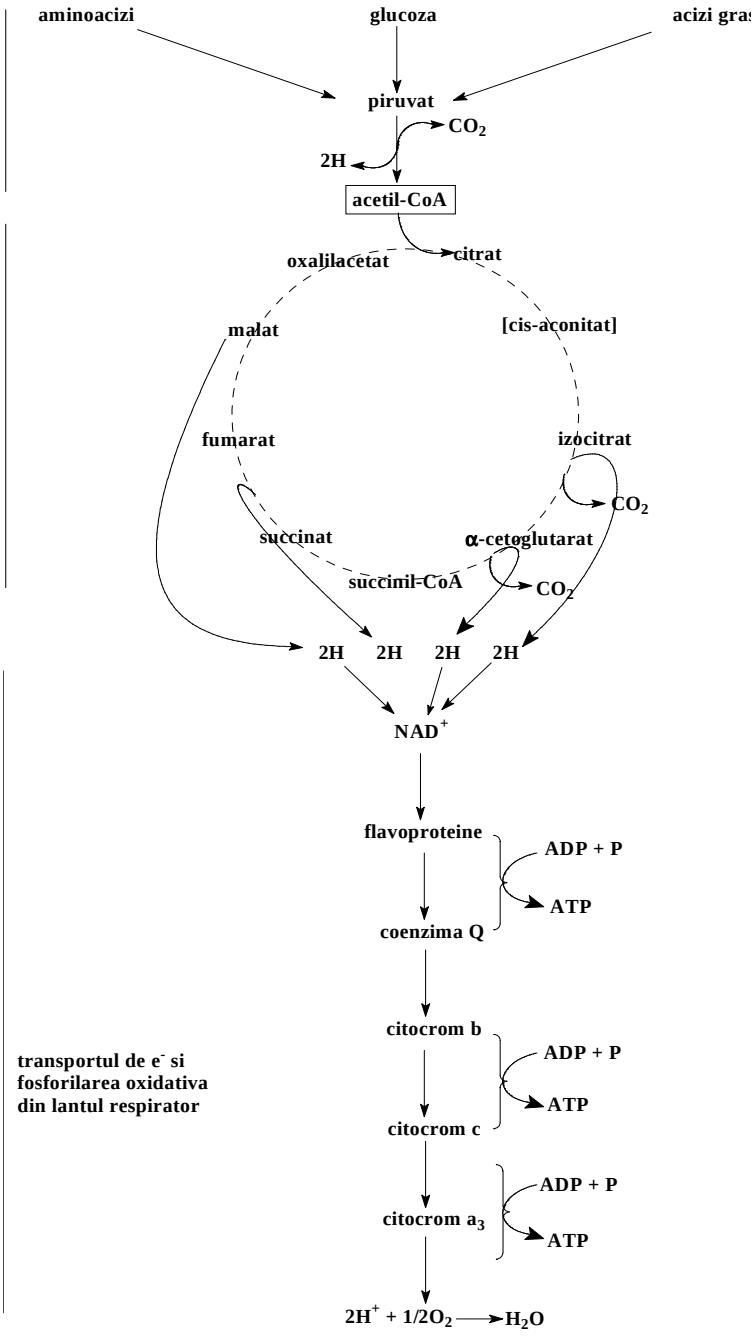


Această reacţie, care este ireversibilă în ţesuturile animale, nu reprezintă o parte din ciclul acizilor tricarboxilici, dar este obligatorie pentru participarea tuturor hidraţilor de carbon la ciclul acizilor tricarboxilici.

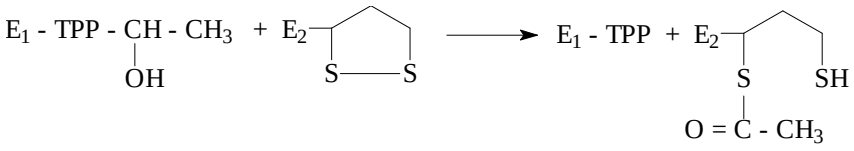
Decarboxilarea oxidativă a piruvatului la acetil-CoA şi dioxid de carbon necesită trei enzime diferite şi cinci coenzime organizate într-un complex multienzimatic. Etapele de reacţii realizate sub influenţa acestor enzime sunt arătate mai jos.



Această etapă este catalizată de către piruvat dehidrogenază, enzimă a cărei grupare prostetică este coenzima tiaminpirofosfat. Piruvatul suferă o decarboxilare pentru a elimina dioxidul de carbon şi derivatul α-hidroxietil.

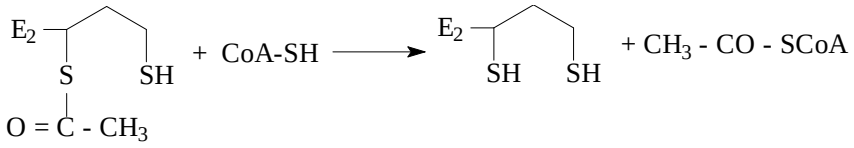


În etapa a doua, gruparea hidroxietil este dehidrogenată de piruvat dehidrogenază iar gruparea acetil care rezultă este transferată la acidul lipoic, care reprezintă gruparea prostetică legată covalent la cea de a doua enzimă, dihidrolipoil transacilază.



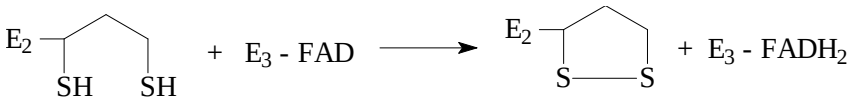
Transferul unei perechi de atomi de hidrogen de la gruparea hidroxil a TPP la legătura disulfurică a acidului lipoic face ca aceasta din urmă să treacă în forma redusă a acidului dihidrolipoic.

În etapa a treia, gruparea acetil este transferată pe cale enzimatică, de la gruparea lipoil a acidului dihidrolipoic la gruparea tiolică a CoA.

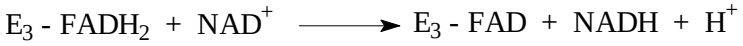


Acetil-CoA astfel formată părăseşte complexul enzimatic sub forma sa liberă.

În etapa a patra, forma ditiolică a grupării lipoil a dehidrolipoil transacetilazei este reoxidată la forma disulfurică prin transferul atomilor de hidrogen de la cea de a treia enzimă a complexului, cunoscută sub numele de dihidrolipoil dehidrogenază, la a cărei grupare prostetică este strâns legat FAD.



$FADH_2$, care rezultă, rămâne legat de enzimă şi este reoxidat în faza a cincea de către NAD^+.

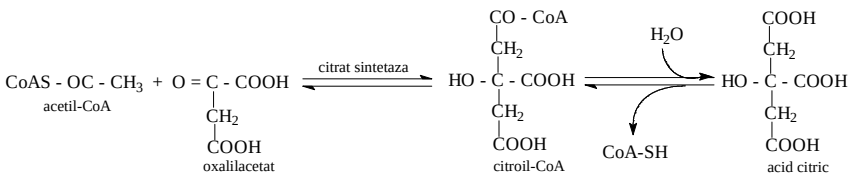


Complexul piruvat dehidrogenază este inhibat specific de compuşii arsenului trivalent (As^{+3}). Activitatea complexului piruvat dehidrogenază este reglată la nivelul ATP-ului şi a ionilor de calciu. Acetil-CoA rezultată intră în ciclul acizilor tricarboxilici unde este transformată în dioxid de carbon şi apă.

Reacţiile ciclului tricarboxilic.

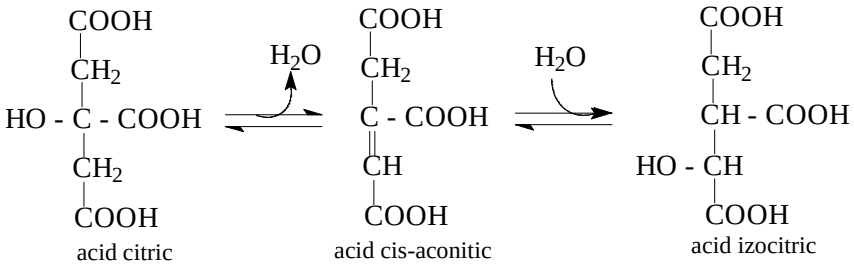
La început ciclul acizilor tricarboxilici reprezenta o simplă schemă. Această schemă a fost completată cu detalii privind enzimele care catalizează reacţiile, cât şi stereochimia reacţiilor din ciclu.

1. *Acidul citric* este primul intermediar al ciclului acizilor tricarboxilici se formează prin condensarea acetil-CoA cu oxalilacetat.



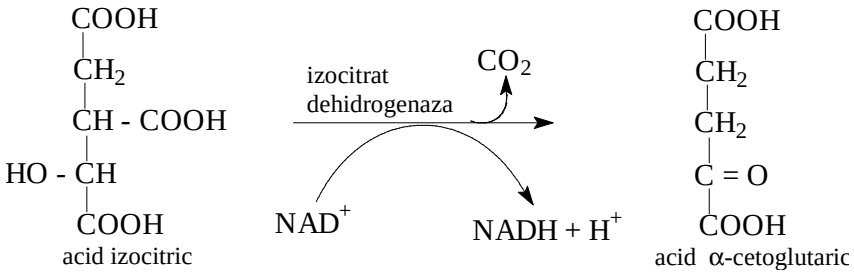
Această reacţie este catalizată de *citrat sintetază*, enzimă ce determină formarea intermediară a citroil-CoA, care ulterior trece în acid citric. Citrat sintetaza are rol de enzimă reglatoare, deoarece este inhibată de ATP şi ($NADH + H^+$), produsul final al fosforilării oxidative.

2. A doua reacţie a ciclului acizilor tricarboxilici este reprezentată de trecerea citratului în *izocitrat*, printr-un intermediar denumit acid *cis-aconitic.*



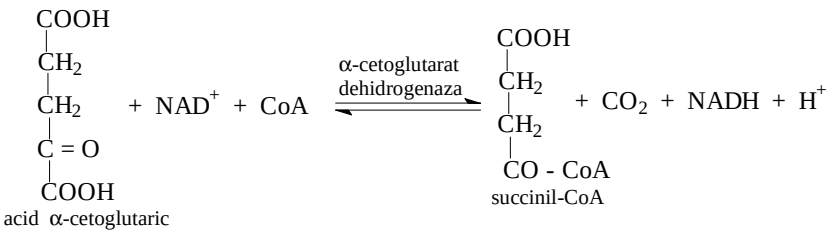
Enzima care catalizează această reacţie se numeşte *aconitază*, care este activată şi stabilizată de Fe^{+2} şi de cisteină. Această reacţie este stereospecifică, adiţia apei la cis-aconitat este o trans adiţie.

3. Oxidarea izocitratului la *α-cetoglutarat* este o reacţie care are loc în prezenţă de *izocitrat dehidrogenază* care necesită prezenţă de NAD^+ sau $NADP^+$.



Izocitrat dehidrogenaza NAD dependentă din mitocondrie necesită prezenţa ionilor de magneziu, este o enzimă alosterică reglată de ADP, ca şi activator specific şi Mg^{+2}.

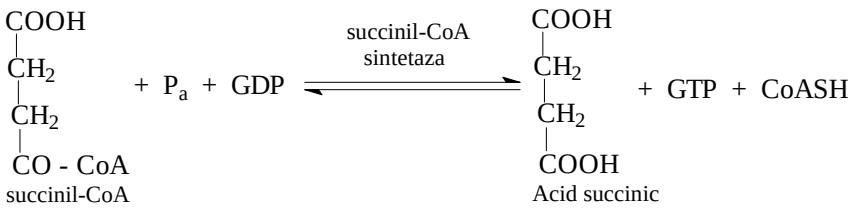
4. A patra etapă o constituie oxidarea α-cetoglutaratului la succinil-CoA în prezenţa α-cetoglutarat dehidrogenazei.



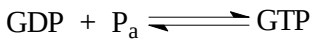
Reacţia este analoagă oxidării piruvatului la acetil-CoA şi dioxid de carbon şi are loc prin acelaşi mecanism, cu participarea tiamin-pirofosfatului, a acidului lipoic, a coenzimei A, FAD-ului

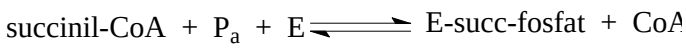
şi NAD-ului drept coenzime.

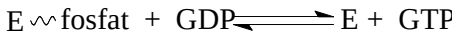
5. În etapa a cincea succinil-CoA suferă o pierdere a grupării CoA, nu printr-o simplă reacţie de hidroliză ci printr-o reacţie conservatoare de energie. Reacţia are loc în prezenţa succinil-CoA sintetazei, ca enzimă, care provoacă formarea legăturii macroergice a GTP-ului, gin GDP şi fosfat anorganic, pe seama legăturii macroergice din succinil-CoA.



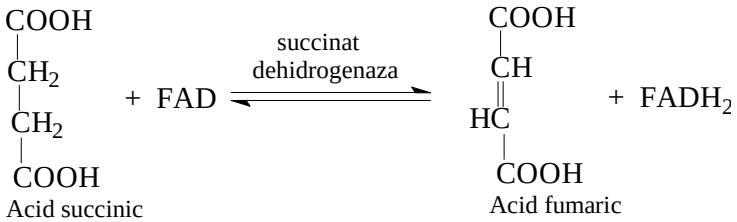
succinil-CoA — Acid succinic







6. În etapa următoare succinatul este oxidat la fumarat de flavoproteina succinat dehidrogenaza, care conţine FAD legat covalent.

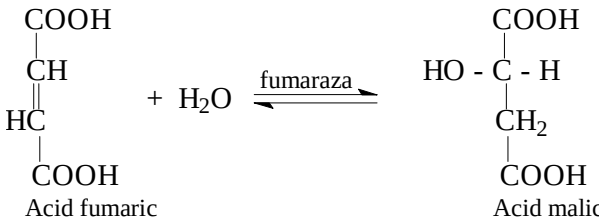


Acid succinic — Acid fumaric

Enzima este activată de succinat, fosfat, ATP şi coenzima Q redusă şi inhibată de concentraţii mici de oxalilacetat.

Reacţia este stereospecifică, dehidrogenaza îndepărtează atomii de hidrogen din poziţia trans de la atomii de carbon metilenici ai succinatului.

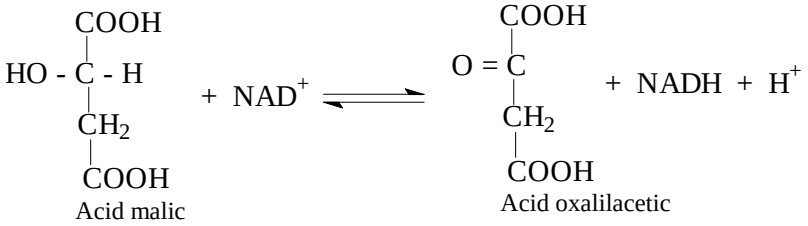
7. Succinatul rezultat este apoi hidratat la L-malat în prezenţa enzimei fumarat dehidrogenază sau fumarază.



Acid fumaric Acid malic

Fumaraza acţionează stereospecific, deoarece ea formează numai stereoizomerul L al malatului.

8. În ultima reacţie a ciclului L-malatul este oxidat la oxalilacetat în prezenţă de L-malat dehidrogenază NAD dependentă.



Acid malic Acid oxalilacetic

Reacţie este strict stereospecifică pentru stereoizomerul L al acidului malic. Oxalilacetatul rezultat poate reintra într-un nou ciclu condensându-se cu acetil-CoA.

Dacă facem un bilanţ al ciclului se constată că pentru fiecare grupare acetil intrată în ciclu doi atomi de carbon formează două molecule de dioxid de carbon, iar prin reacţia de dehidrogenare enzimatică, care au loc, rezultă patru perechi de atomi de hidrogen: trei dintre ele au fost utilizate la reducerea NAD^+ şi una la reducerea FAD. Aceste patru perechi de atomi de hidrogen vor ceda electronii, în cursul *lanţului respirator*, oxigenului.

Ecuaţia globală se poate scrie astfel:

$$\text{Ac-CoA} + 3\,NAD^+ + FAD + 2\,H_2O + GDP + P_a \longrightarrow$$
$$2\,CO_2 + \text{CoA-SH} + 3\,NADH + 3\,H^+ + FADH_2 + GTP$$

Localizarea intracelulară a enzimelor ciclului

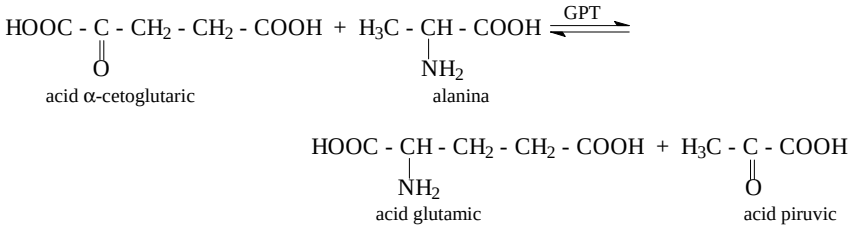
Cercetările efectuate de Kennedy şi Lehninger au demonstrat că mitocondriile izolate prin ultracentrifugare omogenatelor de ţesut hepatic, asigură transformarea tuturor intermediarilor ciclului citric, deci conţin toate enzimele necesare acestui ciclu.

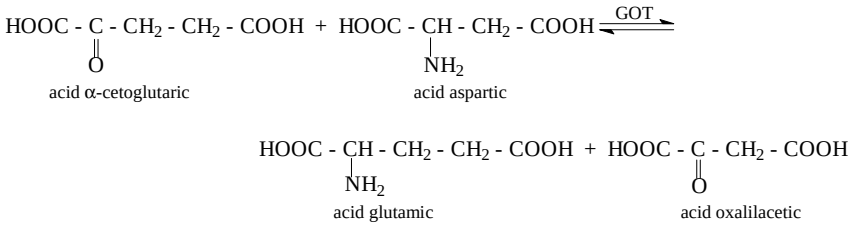
Pe de altă parte nucleele, fracţiunea microzomală şi fracţiunea solubilă a citoplasmei erau inactive. Deci, mitocondriile hepatice conţin toate enzimele necesare ciclului citric şi enzimele necesare transportului de electroni. Deci, se constată că la toate animalele şi plantele studiate până în prezent, sediul desfăşurării ciclului Krebs ce reprezintă mitocondriile.

Natura amfibolică a ciclului

Ciclul acizilor tricarboxilici este de fapt o cale amfibolică, care funcţionează nu numai în catabolism, ci şi în anabolism, fiind precursor important într-o serie de biosinteze. Anumiţi intermediari şi cu preponderenţă α-cetoacizi şi oxalilacetatul servesc în biosinteza unor aminoacizi

ce pot fi uşor transformaţi în prezenţa unor transaminaze.

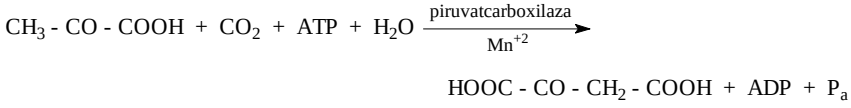



HOOC - C - CH2 - CH2 - COOH + HOOC - CH - CH2 - COOH
GOT
O
NH2
acid α-cetoglutaric
acid aspartic
HOOC - CH - CH2 - CH2 - COOH + HOOC - C - CH2 - COOH
NH2
O
acid glutamic
acid oxalilacetic

Citratul format imediat după intrarea acetil-CoA în ciclu poate să servească ca precursor în biosinteza hemului. La fel şi succinil-CoA va servi pentru biosinteza hemului.

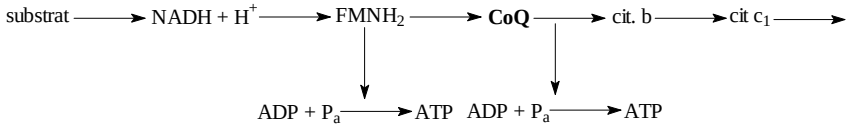
Prin îndepărtarea citratului din ciclul acizilor tricarboxilici, acesta serveşte pentru biosinteza acizilor graşi

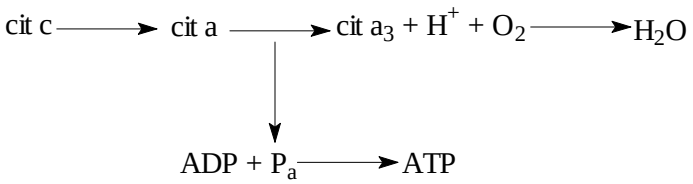
Aceşti intermediar pot fi, la rândul lor, „puşi la loc" prin reacţii enzimatice specifice, numite şi reacţii anaplerotice. De exemplu carboxilarea piruvatului duce la formarea acidului oxalilacetic.



Lanţul respirator constituie o secvenţă de procese biochimice a cărui rezultat este transportul electronilor la oxigenul molecular. Sistemul este format dintr-un complex multienzimatic având componentele înşiruite într-o secvenţă dictată de valoarea crescândă a potenţialului redox.

Sistemul de enzime care deserveşte lanţul respirator este localizat în membrană mitocondrială internă.





Energia eliberată în urma proceselor de oxidare din lanţul respirator este încorporată în moleculele de ATP.

$$ADP + Pa + Q \longrightarrow ATP + H_2O$$

Aceste procese ce cuplează sinteza endergonică de ATP în urma unor procese de oxidoreducere din lanţul respirator reprezintă punctele de fosforilare oxidativă.

Astfel, oxidarea unei molecule de NADH + H^+ din lanţul respirator produce trei molecule de ATP, iar oxidarea unei molecule de $FADH_2$ produce 2 ATP.

Semnificaţia energetică a ciclului acizilor tricarboxilici. Procesele din ciclul Krebs şi din lanţul respirator au loc în mitocondrie şi constituie etapa finală a oxidării celulare care furnizează o cantitate mare de energie stocată sub formă de ATP.

Bilanţul energetic al ciclului este următorul:

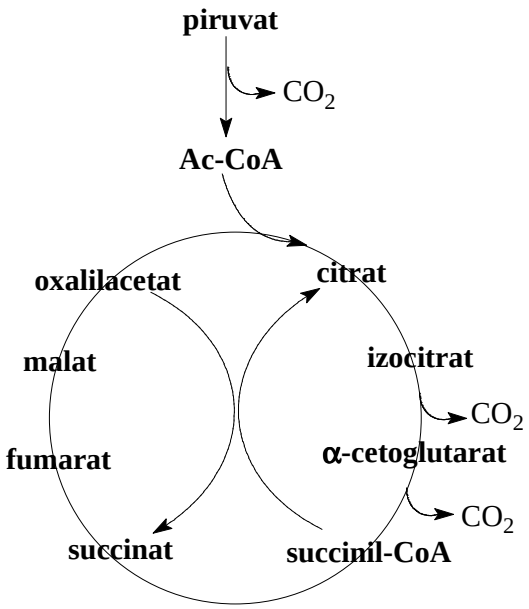
$$GTP \longrightarrow 1\ ATP$$

$$3(NADH + H^+) \longrightarrow 3\ ATP$$

$$FADH_2 \longrightarrow 2\ ATP$$

12 ATP/AcCoA

Reglarea ciclului acizilor tricarboxilici.


piruvat
CO_2
Ac-CoA
oxalilacetat
citrat
malat
izocitrat
CO_2
fumarat
α-cetoglutarat
CO_2
succinat
succinil-CoA

ENZIME TRANSPORTOARE DE ELECTRONI

În transportul de electroni de la substrate organice la oxigenul reducător participă patru tipuri de enzime:

- dehidrogenaze legate de un nucleu piridinic (piridindependente), care necesită NAD sau NADP ca şi coenzime;
- dehidrogenaze legate de nucleu flavinic (flavindependente), care conţin FAD sau FMN ca şi grupare prostetică;
- proteine cu fier-sulf;
- citocromii, care conţin inelul porfirinic cu fier ca şi grupare prostetică.

În plus, faţă de aceste proteine, pentru transportul de electroni mai participă şi ubiquinona sau coenzima Q.

Dehidrogenaze legate de piridină.

Deoarece aceste enzime necesita NAD sau NADP drept coenzime, aceste enzime se numesc dehidrogenaze piridin dependente. Se cunosc mai bine de douăsute de astfel de enzime care funcţionează în diferite procese metabolice. Forma generală a reacţiilor catalizate de acest tip de enzime este:

$$SH_2 + NAD^+ \longrightarrow S + NADH + H^+$$

$$SH_2 + NADP^+ \longrightarrow S + NADPH + H^+$$

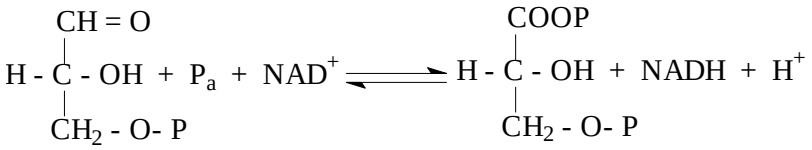
Aceste reacţii implică transferul reversibil a echivalenţilor reducători de la substrat, sub forma unui ion de hidrură (H^-), la poziţia 4 a inelului nicotinamidic (în forma oxidată) a nucleului piridinic; celălalt hidrogen este eliminat de pe substrat ca ion liber (H^+)

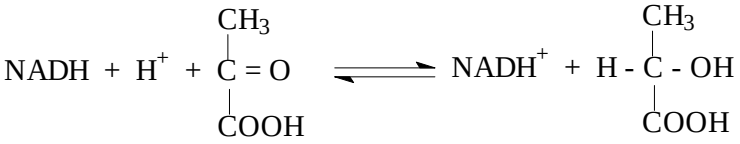
Piridinnucleotidele sunt legate necovalent şi slab de dehidrogenaza proteică. Deci, NAD şi NADP trebuiesc privite nu ca şi grupări prostetice fixe, ci ca un al doilea substrat, deoarece ele se leagă reversibil de situsul activ catalitic de pe enzimă. Astfel, nucleotidele piridinice servesc ca şi transportori disociabili de electroni.

Unele dehidrogenaze piridin dependente (ex. β-hidroxibutirat dehidrogenaza) sunt localizate în mitocondrie, altele (de ex. lactat dehidrogenaza) sunt localizate în citoplasmă, iar altele (ex. malat dehidrogenaza) se găsesc în ambele compartimente. În celulele animale, NAD se găseşte intr-o cantitate mult mai mare decât NADP. În ficat cca 6o% din NAD-ul total se află în mitocondrie, iar restul în citoplasmă. Dehidrogenazele NAD - dependente au un rol important în respiraţie unde asigură transferul de electroni de pe diferite substrate spre oxigen, pe când dehidrogenazele NADP-dependente servesc în principal la transferul de electroni de la intermediari catabolici la intermediari anabolici.

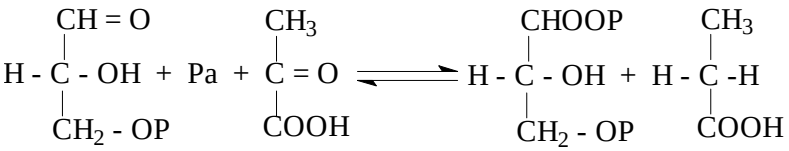
Multe dehidrogenaze piridin – dependente conţin strâns legaţi ioni metalici „divalenţi”, de exemplu, alcool dehidrogenaza conţine ioni de zinc (Zn^{+2}). Dehidrogenazele piridin dependente reacţionează stereospecific, de exemplu, lactat dehidrogenaza este specifică numai pentru L-lactat.

În secvenţa glicolitică aldehida 3-fosfoglicerică este oxidată la piruvat în următoarele reacţii, cu intermediarul comun NAD.



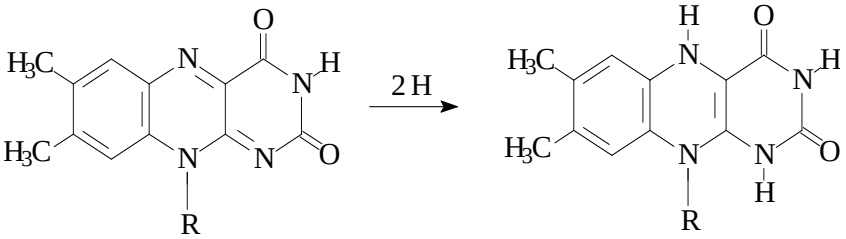


Însumând cele două ecuaţii:



deci sistemul NADH/NAD^+ poate transfera electroni de la un substrat la altul în virtutea faptului că NADH are capacitatea de a acţiona ca un intermediar comun pentru două reacţii piridin dependente, fiecare catalizată de o dehidrogenază specifică.

Dehidrogenaze legate de flavină. Aceste enzime conţin, strâns legate grupări prostetice, fie FMN, fie FAD. În reacţiile catalizate de aceste enzime are loc transferul unei perechi de atomi de hidrogen de la substrat pentru a genera formele reduse $FMNH_2$ şi $FADH_2$.



Cele mai importante dehidrogenaze flavin – dependente întâlnite în transportul de electroni în procesul de respiraţie mitocondrială sunt:

1. *NADH dehidrogenaza*, care conţine FMN şi catalizează transferul de electroni de la NADH la următorul membru al lanţului respirator;

2. *Succinat dehidrogenaza*, este activă în ciclul acizilor tricarboxilici;

3. *Dihidrolipoil dehidrogenaza*, un component al sistemului piruvat şi α-cetoglutarat dehidrogenază;

- *Acil-CoA- dehidrogenaza*, catalizează prima etapă de dehidrogenare din oxidarea acizilor graşi.

Dehidrogenazele flavin dependente diferă semnificativ de cele piridin dependente, deoarece flavin nucleotida este strâns legată de molecula enzimei, funcţionând astfel ca o grupare prostetică şi nu ca şi o coenzimă. Flavin nucleotida nu părăseşte enzima în timpul sau după efectuarea ciclului catalitic.

Enzimele de oxidoreducere flavin dependente pot fi plasate în două clase: dehidrogenaze şi oxidaze, în funcţie de capacitatea lor de a reacţiona ca acceptori de electroni. La flavin dehidrogenaze de tipul NADH dehidrogenază şi succinat dehidrogenază există o tendinţă foarte slabă a reoxidării formei reduse a flavin nucleotidei de către oxigenul molecular. Spre deosebire de acestea, flavin oxidazele sunt reoxidate de oxigenul molecular cu formare de peroxid de hidrogen, de exemplu, D-aminoacid oxidaza şi xantin oxidaza.

În celule, acceptorul direct de electroni dintre hidrogenazele flavin dependente, pare să fie ubiquinona din lanţul transportor de electroni. Unele flavoproteine conţin, pe lângă flavin nucleotidă şi metale (de ex. Fe şi Mn), aceştia fiind esenţiali în pentru exprimarea activităţii catalitice. Flavoproteinele cu fier (de ex. succinat dehidrogenaza şi NADH dehidrogenaza) conţin atomi de sulf reactivi. Atomii de fier în flavoproteinele cu fier şi sulf suferă tranziţia:

$$Fe^{II} \rightleftharpoons Fe^{III}$$

şi par să participe la transferul de electroni către şi de la gruparea prostetică flavinică. Alte enzime flavin dependente (de ex. xantin oxidaza şi aldehid oxidaza) conţin Fier şi molibden.

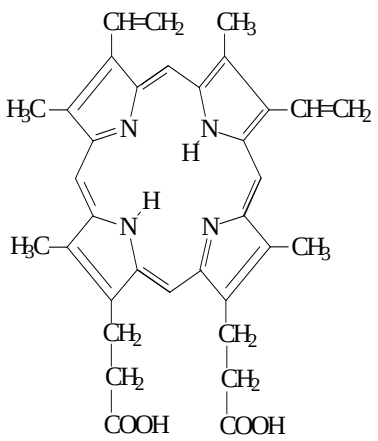
Proteine cu fier şi sulf.

Proteinele cu fier – sulf conţin fier şi sulf liberabil cu acizi, în cantităţi echimoleculare. Prima proteină fier – sulf descoperită, feredoxina, a fost identificată într-o bacterie anaerobă, Clostridium pasteurianum, capabilă să fixeze azotul atmosferic. Proteine asemănătoare au fost apoi descoperite în plantele superioare, unde ele se găsesc în cloroplaste şi participă la transportul de electroni al procesului de fotosinteză. Proteine cu fier – sulf au fost găsite şi în microorganisme şi în ţesuturi animale, în mod special în mitocondrii. Grupări Fe – S se găsesc în unele flavoproteine şi se numesc centri fier – sulf. Aceste proteine par să funcţioneze ca transportori de electroni suferind tranziţii reversibile Fe(II) – Fe(III). În lanţul mitocondrial de la NADH la oxigen, par să existe cel puţin şapte centre de fier – sulf diferite. Patru sunt localizate în complexul NADH-dehidrogenaza, două centre sunt asociate citocromului b şi unul citocromului c_1.

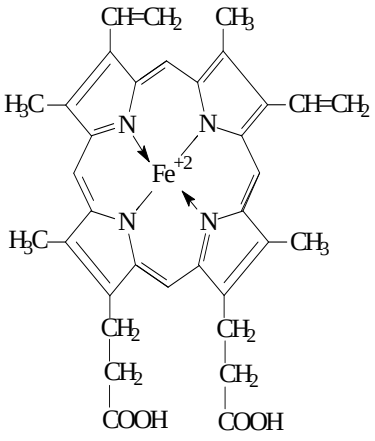
Citocromii

Citocromii sunt proteine transportoare de electroni care conţin în molecula lor ca şi grupări prostetice fier porfirinic. Aceste structuri sunt prezente doar în celulele aerobe. Unii citocromi sunt localizaţi în membrana mitocondrială internă, unde acţionează secvenţial pentru transportul de electroni proveniţi de la diferite sisteme de oxido-reducere până la oxigen molecular. Alţi citocromi joacă un rol important în procesele specializate de hidroxilare. Toţi citocromii suferă tranziţii reversibile de stare de oxidare Fe(II) – Fe(III) în timpul secvenţelor de transport de electroni. Formele reduse de citocromi nu pot fi oxidate direct de către oxigenul molecular, cu excepţia citocromului terminal al respiraţiei mitocondriale, şi anume citocromul a_3 sau citocrom c oxidaza, care conţine cupru ca şi cofactor. În membrana mitocondriile animalelor superioare, au fost identificaţi cel puţin cinci citocromi diferiţi (cit. b, c_1, c, a şi a_3.

Citocromii conţin ca şi grupare prostetică porfirinică protoporfirina. Dacă protoporfirina complexează ionul de F^{+2} rezultă hemul iar dacă complexează ionul Fe^{+3} rezultă hemina.

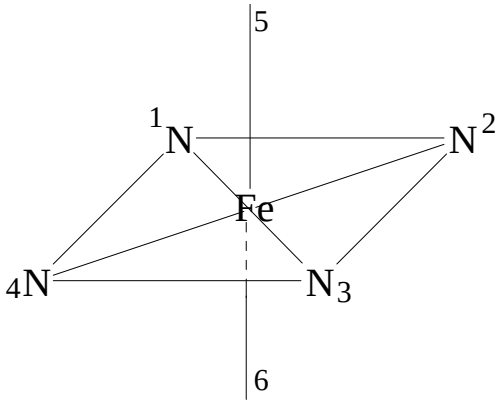


protoporfirina IX



hem

Se ştie că ionul de fier are şase coordinaţii. Datorită structurii plane a sistemului aromatic porfirinic cei patru atomi de azot formează un pătrat iar ionul de fier se află în centru, consumând în felul aceste patru coordinaţii. Coordinaţiile 5 şi 6 se află de o parte şi de alta a planului pătratului pe o perpendiculară.

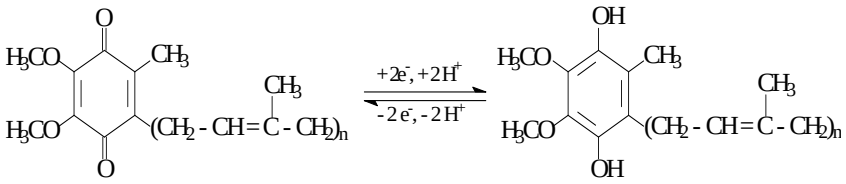


În mioglobină şi hemoglobină, coordinaţia a cincea este legată de gruparea imidazolică a unui rest de histidină, iar poziţia a şasea este fie neocupată, fie ocupată cu O_2. În aproape toţi citocromii (cu excepţia citocromului a_3, atât poziţia a cincea cât şi poziţia a şasea de coordinare sunt ocupate de grupările R ale unor resturi specifice de aminoacizi. Deci citocromii pot lega liganzi ca O_2, CO sau CN^-.

În funcţionarea normală a hemoglobinei şi a mioglobinei atomul de fier nu suferă schimbări ale stării de oxidare, în timp ce oxigenul este desprins sau prins. La citocromi, însă, Atomul de fier suferă trecerii reversibile între starea de oxidare Fe(II) şi Fe(III). Deci, se constată că citocromii servesc ca transportori de electroni, pe când hemoglobina şi mioglobina acţionează ca transportori de liganzi.

Ubiquinona (Coenzima Q)

Ubiquinona este o coenzimă liposolubilă, care participă la transferul de electroni de la substratele organice la oxigen, în lanţul respirator din mitocondrie.



Această coenzimă este o chinonă reductibilă, în mod reversibil şi are o catenă laterală izoprenoidă. Se cunosc mai multe ubiquinone, care diferă numai prin lungimea catenei izoprenoide, care are şase unităţi de izopren ân unele microorganisme şi zece în mitocondriile ţesuturilor animale. În ţesuturile vegetale, corespondentele ubiqinonei sunt plastochinonele, care îndeplinesc funcţii similare ân transportul de electroni ai fotosintezei.

Calea transportului de electroni (lanţul respirator)

Secvenţele de reacţii pe care le pargurg electronii de la NADH la oxigen molecular poartă numele de lanţ respirator. NADH este forma sub care electronii sunt colectaţi de la diferite substrate, cu ajutorul dehidrogenazelor NAD-dependente.

Secvenţa de reacţii, care are loc este:

$$NADH + H^+ + FMN \longrightarrow NAD^+ + FMNH_2$$
$$FMNH_2\ 2\ Fe.S(III) \longrightarrow FMN + 2\ Fe.S(II) + 2\ H^+$$
$$2\ Fe.S(II) + 2\ H^+ + Q \longrightarrow 2\ Fe.S(III) + QH_2$$
$$QH_2 + 2\ cit.b(III) \longrightarrow Q + 2\ H^+ + 2\ cit.b(II)$$
$$2\ cit.b(II) + 2\ cit.c(III) \longrightarrow 2\ cit.b(III) + 2\ cit..c(II)$$
$$2\ cit.c(II) + 2\ cit.a(III) \longrightarrow 2\ cit.c(III) + 2\ cit.a(II)$$
$$2\ cit.a(II) + 2\ cit.a_3\ (III) \longrightarrow 2\ cit.a(III) + 2\ cit.a_3(II)$$
$$2\ cit.a_3(II) + 1/2\ O_2 + 2\ H^+ \longrightarrow 2\ cit.a_3(III) + H_2O$$

Se constată că transportorii de electroni intermediari din lanţ, dinspre substrat către oxigenul molecular, se găsesc în stare de echilibru aerob într-o succesiune de forme din ce în ce mai oxidate, arătând că electronii se scurg de-a lungul unui gradient de la NADH la O_2.

De asemenea, s-a constatat că există inhibitori care blochează în mod specific transportorii din lanţul transportor de electroni. Exemple de astfel de inhibitori amintim: rotenona (substanţă foarte toxică extrasă din plante), amitalul (medicament din clasa barbituricelor), antimicina (izolat din Streptomiccs griseus), monoxidul de carbon, hidrogenul sulfurat şi acidul cianhidric.

Schimburi de protoni în timpul transportului de electroni.

O altă proprietate a lanţului transportului de electroni este aceea că ionii de hidrogen sunt formaţi sau utilizaţi întru-nele din reacţiile secvenţiale ale transportului de electroni.

Unii dintre transportorii de electroni (NADH şi ubiquinona) transportă electroni ca atare şi nu preiau s-au cedează protoni. Aceste reacţii unde se formează sau se absorb protoni au un rol important în conservarea energiei transportului de electroni.

Energetica transportului de electroni.

În cursul trecerii unei perechi de electroni de-a lungul lanţului respirator de la NADN la oxigen se formează 3 ATP, în urma unui proces numit fosforilare oxidativă.

$$P_a + ADP \rightleftharpoons ATP + H_2O$$

Cele trei puncte de formare a ATP în procesul de transport de electroni de la NADH la oxigen sunt:

$$FP - Fe.S \longrightarrow Q \quad 1\ ATP$$
$$cit.b \longrightarrow cit.c \quad 1\ ATP$$
$$cit.a_3 \longrightarrow O_2 \quad {}_1\ ATP$$

Deci, se constată că eliberarea energiei are loc în trepte şi sunt absorbiţi şi eliberaţi numai la unele dintre aceste etape, sugerând că schimburile de protoni sunt implicate în conservarea energiei.

Transhidrogenaze piridin-nucleotide

Ţesuturile animale şi microorganismele conţin enzime ce catalizează reacţia:

$$NADPH + N\ AD^+ \rightleftharpoons NADP^+ + NADH$$

Această reacţie permite utilizarea echivalenţilor reducători ai NADH de către lanţul respirator, care, în mod normal, acceptă electroni de la NADH ca donor apropiat. Enzimele ce catalizează reacţia inversă, ce permite reducerea $NADP^+$ se numesc *transhidrogenaze*. Sensul reacţiei de trasnhidrogenare în mitocondria intactă depinde de energia produsă de transportul de electroni şi prezenţa ATP. Viteza reacţiei de la NADPH la NAD^+ este, de obicei, mai mare decât viteza reacţiei în sens invers. Tendinţa electronilor de a trece de la NADH la $NADP^+$ cu formare NADPH apare atunci când există exces de ATP, iar NADPH-ul rezultat joacă un rol însemnat în procesele de biosinteză.

Utilizarea oxigenului de către oxigenaze.

Deşi, cea mai mare parte an oxigenului molecular consumat de celulele aerobe este redus cu formare de apă. Cantităţi mici de oxigen sunt folosite în reacţii enzimatice, în care unul sau ambii atomi de oxigen din moleculă sunt introduşi direct pe substrate organice cu formare de grupări hidroxil. Enzimele care catalizează astfel de reacţii se numesc oxigenaze. Şi se împart în două clase.:

- dioxigenaze
- monoxogenaze

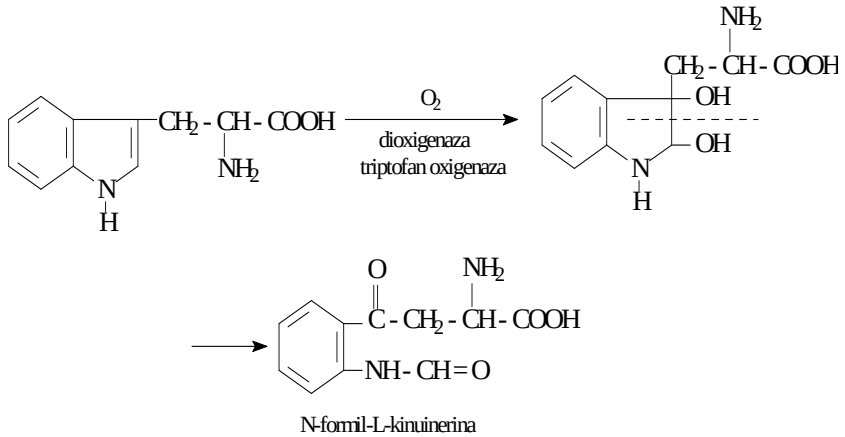
Dioxigenazele catalizează introducerea ambilor atomi de oxigen ai moleculei O_2 pe diferite substrate organice, în timp ce monoxigenazele introduc numai unul.

Dioxigenazele numite şi oxigen-transferaze, catalizează reacţii de tipul:

$$AH_2 + O_2 \longrightarrow A(OH)_2$$

unde AH_2 este molecula de substrat $A(OH)_2$ forma hidroxilată.

Cele două grupări hidroxil sunt introduse de obicei în poziţii adiacente sau vicinale. Produsul $A(OH)_2$ este deseori instabil şi are loc ruperea legăturii C – C între grupările hidroxilice vicinale. Un exemplu important este cazul triptofan-2,3-dihidroxilazei, enzimă ce catalizează o etapă de degradare oxidativă a triptofanului. În această reacţii doi atomi de oxigen sunt introduşi în ciclul de cinci atomi al triptofanului rezultând un produs hidroxilat, care este apoi transformat în L-formilkinunerină.



N-formil-L-kinuinerina

Monooxigenazele sau hidroxilazele catalizează introducerea unui singur atom de oxigen din molecula de oxigen pe un substrat organic, celălalt atom de oxigen fiind redus la apă.

Monoxigenazele necesită un al doilea substrat care să cedeze electroni pentru reducerea pentru reducerea celui de-al doilea atom la apă. Din această cauză monooxigenazele mai sunt numite şi oxigenaze cu funcţiune mixtă. Ecuaţia generală este:

$$AH + XH_2 + O_2 \longrightarrow AOH + H_2O + X$$

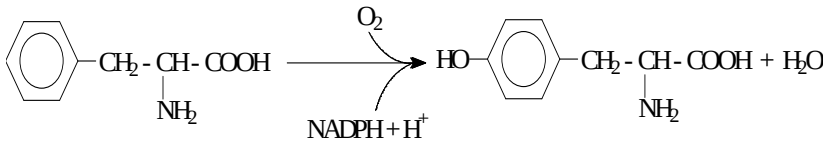
unde: AH - substratul ce va fi hidroxilat, XH_2 - donorul de electroni, AOH – substratul hidroxilat şi X – donorul de electroni oxidat. Substratul care furnizează electroni pentru a reduce un atom de oxigen la apă este NADH sau NADPH.

Cele mai multe monooxigenaze (din bacterii) sunt flavoproteine care conţin FAD şi catalizează secvenţa de reacţii:

$$NAD(P)H + E\text{-}FAD \longrightarrow NAD(P)^+ + E\text{-}FADH_2$$
$$E\text{-}FADH_2 + AH + O_2 \longrightarrow E\text{-}FADH_2 + AOH + H_2O$$

unde E + enzima şi AH + substratul.

De exemplu: fenilalanin hidroxilaza (enzimă hepatică) sau fenilalanin-4-monooxigenaza catalizează reacţia de hidroxilare a fenilalaninei cu formare de tirozină. Ultimul donor de electroni este NADPH, dar echivalenţii reducători sunt transferaţi prin intermediul tetrahidrobiopterinei.



Superoxid dismutaza şi catalaza

În timpul transportului de electroni spre oxigenul molecular sau în diferite reacţii de hidroxilare şi oxigenare, se pot forma produşi toxici rezultaţi prin reducerea parţială a oxigenului. Cei mai importanţi produşi toxici sunt O_2^- (superoxid) şi H_2O_2, care sunt extrem de reactivi şi capabili de a distruge activitatea biologică a unor macromolecule.

În celulele aerobe a fost pusă în evidenţă o superoxid dismutază, ce catalizează reacţia:

$$2\ O_2^- + 2\ H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$$

Peroxidul de hidrogen format este distrus de o hemoglobulină numită catalază.

$H_2O_2 \longrightarrow H_2O + 1/2\ O_2$

Superoxid dismutaza se găseşte sub două forme una în citoplasma extramitocondială şi alta în mitocondrie. Acţiunea superoxid dismutazei şi catalazei este completată de acidul sorbic, glutationul redus şi vitamina E, care acceptă uşor electroni, fiind eficienţi pentru îndepărtarea radicalului.

VI. METABOLISMUL GLUCIDIC

Generalităţi.

Glucidele sau zaharurile sunt compuşi polihidroxicarbonilici (aldoze şi cetoze). În funcţie de capacitatea de a hidroliza glucidele se pot clasifica în monozaharide (zaharuri simple nehidrolizabile), oligozaharide (formate din 2 – 10 resturi de monozaharide, legate prin intermediul legăturilor glicozidice şi care prin hidroliză eliberează monozaharidele constituente) şi polizaharide (formate din lanţuri lungi, liniare sau ramificate de monozaharide, ce pot fi eliberate prin hidroliză.

O categorie aparte o constituie glucidele conjugate glicoproteinele, glicolipidele (care prin hidroliză pun ân libertate pe lângă componenta glucidică şi o componentă neglucidică numită aglicon).

Rolul glucidelor în organism.

Glucidele îndeplinesc în organism funcţii variate.

a. Glucidele sunt surse nemijlocite de energie. Astfel în toate organismele vii, sursa imediată de energie o constituie oxidarea glucozei. De exemplu, celulele nervoase sunt dependente de glucoză ca şi sursă de energie.

b. Glucidele au rol de substanţe de rezervă. În organismele animale superioare şi ale omului, glucoza poate constitui depozite de energie sub formă de glicogen hepatic şi muscular. La plante, substanţa majoră de rezervă glucidică este amidonul.

c. Glucidele îndeplinesc roluri de substanţe structurale şi de susţinere. La animale, polizaharidele intră în structura ţesuturilor conective ale matricei osoase.

d. Glucidele sunt substanţe cu funcţii specifice. Mucopolizaharidele intră în structura substanţelor de grup sangvin, participă la procesele imunitare, intră în structura heparinei, substanţă cu acţiune anticoagulantă.

Digestia şi absorbţia glucidelor.

În organismul animal, glucidele pot fi de origine exogenă, introduse în organism sub formă de alimente sau de origine endogenă, rezultate în urma unor procese de biogeneză. Cea mai mare parte din glucidele din organismul animalelor superioare şi al omului este de origine exogenă. Glucidele alimentare pot fi, la rândul lor, de natură vegetală sau animală. principala glucidă de origine animală este glicogenul, însă cea mai mare parte a glucidelor alimentare constă din amidon, glucidă de origine vegetală, mai ales sub formă de pâine.

În cantităţi mai mici alimentele mai conţin dizaharide ca zaharoza, lactoza, maltoza sau monozaharide ca glucoza sau fructoza.

Pentru a putea fi utilizate de către organism, glucidele alimentare sunt în prealabil unui proces de digestie, urmat de un proces de absorbţie. Digestia polizaharidelor începe în cavitatea bucală sub acţiunea amilazei salivare, care este o enzimă hidrolitică secretată de glandele salivare. Sub acţiunea acestei enzime, amidonul alimentar este hidrolizat sub formă cu formare de dextrine, eventual maltoză. Acţiunea acestei enzime este limitată timpul de contact pentru că alimentele rămân în gură un timp relativ scurt.

În continuare, la nivelul stomacului sub acţiunea sucului gastric asupra bolului alimentar, amilaza salivară este inactivată de aciditatea sucului gastric.

La nivelul intestinului, glucidele alimentare sunt hidrolizate sub acţiunea enzimelor pancreatice şi a celor intestinale. Astfel, amilaza pancreatică acţionează asupra amidonului şi a glicogenului alimentar, pe care le hidrolizează cu formare intermediară de dextrine, până la stadiul de maltoză. Asupra maltozei, precum şi asupra altor dizaharide, acţionează enzime conţinute în sucul gastric.

O serie de polizaharide, cum ar fi celuloza, nu sunt transformate în tubul digestiv al omului, care nu conţine enzimele necesare acestor procese. Aceşti compuşi trec, ca atare, în intestinul gros, unde

sunt degradaţi în mică măsură sub acţiunea florei intestinale şi sunt apoi eliminaţi prin fecale. Aşadar, aceste polizaharide nu au rol în nutriţie, cu sunt utile pentru digestie, deoarece reglează peristaltismul intestinal.

Ca rezultat al digestiei zaharurilor, în intestinul subţire rezultă o serie de monozaharide, printre care predomină glucoza, galactoza, fructoza, manoza precum şi unele pentoze.

Absorbţia glucidelor are loc la nivelul intestinului subţire sub formă de monozaharide. Viteza de absorbţie depinde de mai muţi factori, printre care regiunea şi starea de funcţionare a intestinului, prezenţa unor anumite coenzime (tiamină, acid pantotenic) şi hormoni (tiroxină).

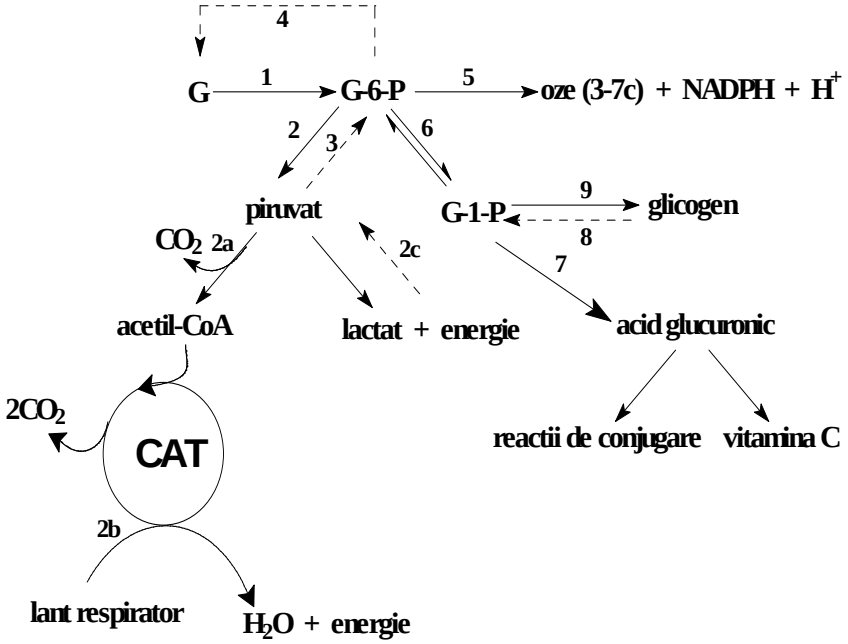
Absorbţia monozaharidelor se pate face prin mecanisme fizice sau prin mecanisme biochimice. Monozaharidele provenite din absorbţia intestinală ajung prin vena portă la ficat, unde pot fi temporar depozitate sub formă de glicogen, apoi trec în circulaţia generală ajungând pe calea sangvină în toate celulele diferitelor organe şi ţesuturi.

În celule, glucidele pot suferi diferite transformări, care pot fi *anabolice* (în cadrul cărora au loc sinteze de glucide din alţi compuşi glucidici şi neglucidici) şi *catabolice* (în cadrul cărora moleculele glucidice sunt degradate cu eliberare de energie).

Catabolismul glucidic

Glucidele care servesc cel mai frecvent substrate al transformărilor catabolice la animale, plante şi microorganisme este glucoza

Schema metabolizării glucozei



1 - fosforilarea glucozei, 2 – glicoliza, 2a – decarboxilarea oxidativă a piruvatului, 2b – ciclul Krebs şi lanţul respirator, 2c, 3, 4 – gluconeogeneza, 5 – calea pentozofosfatului, 6 – calea de interconversie în cei doi esteri ai glucozei, 7 – gliconeogeneza, 9 – glicogenoliza.

Ficatul utilizează glucoza astfel:

- o parte o utilizează pentru necesităţi proprii;
- o parte o depozitează sub formă de glicogen;
- cea mai mare parte este repusă în circulaţie pentru a servi altor ţesuturi.

Glucoza şi fructoza sunt transformate în ficat în glucoză, care reprezintă forma principală de utilizare de către organismul animal.

În ficat:

25% din glucoză se transformă pe calea 2;

2% din glucoză se transformă pe calea 5;

18% din glucoză se transformă pe calea 8;

55% din glucoză este repusă în circulaţie graţie căii nr. 4, catalizată de către glucozo-6-fosfatază. Această cale este prezentă în rinichi, intestin, lipseşte din muşchi, creier, ţesut adipos.

Eritrocitele folosesc

90% din glucoză pe calea 2;

10% din glucoză pe calea 5.

Creierul

Nu face depozit de glicogen;

Când nu primeşte glucoză pe cale sangvină rămâne fără substrat glucidic, astfel că în caz de hipoglicemie, se ajunge uşor la lipotimie.

Calea nr. 1

- cale obligatorie pentru intrarea glucozei în transformări metabolice.

$$G + ATP \xrightarrow[\text{glucokinaza}\ \text{hexokinaza}]{Mg^{+2}} G\text{-}6\text{-}P + ADP$$

- procesul de fosforilare este endergo-dependent ireversibil;
- procesul are loc cu scăderea entalpiei libere;
- enzime: glucokinaza (enzimă specifică)

  hexokinaza (enzimă nespecifică).

Ambele enzime au rol cheie în metabolismul glucozei.

Glicoliza

Calea nr. 2 – ciclul Embden – Meyerhof – Parnas (glicoliza)

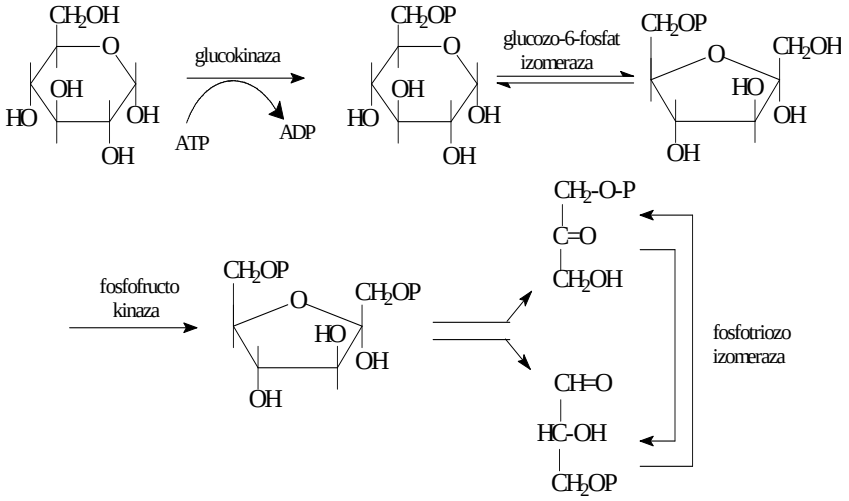
- procesul de degradare a glucozei până la piruvat sau lactat;
- procesul are loc cu producere de energie;
- se desfăşoară în faza solubilă a celulei (citoplasmă), deoarece acolo se găseşte întregul set de enzime necesare desfăşurării procesului.

Etapele glicolizei

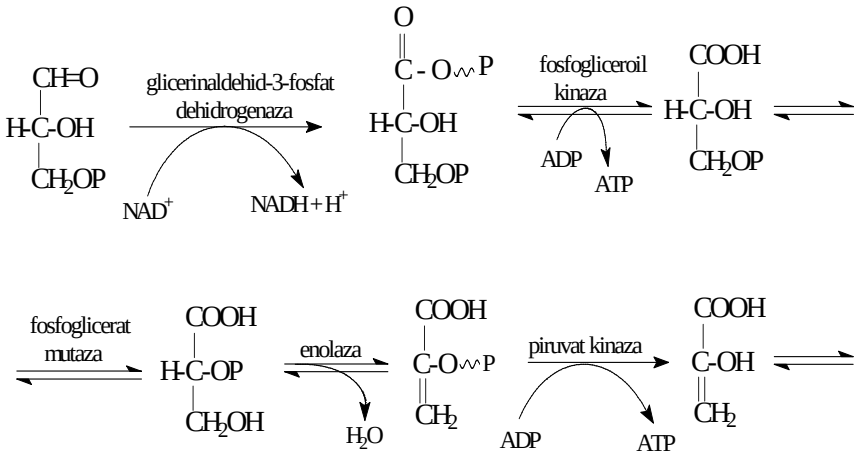
I degradarea glucozei până la trioze (proces consumator de energie);

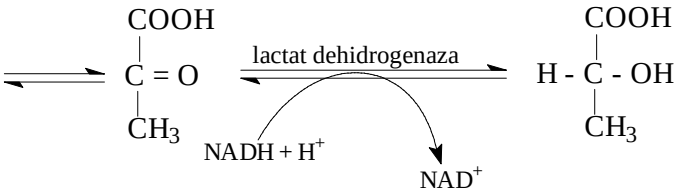
II descompunerea glicerinaldehid-3-fosfatului până la piruvat (proces în care se produce energie)

I.



II.





Importanţa glicolizei

- glicoliza este o etapă obligatorie în procesul de degradare a glucozei, ca substrat energetic până la dioxid de carbon şi apă;

- este cea mai importantă cale sub aspect cantitativ de degradare a glucozei;

Bilanţul energetic al glicolizei

I	- consum	2 ATP	(reacţiile 1 şi 3)
II	- câştig	4 ATP	(reacţiile 7 şi 10)
		2 ATP	

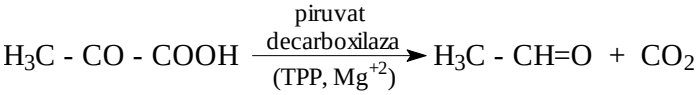
Glicoliza este:

- un proces metabolic cu bilanţ exergonic;
- o importantă sursă de energie atât pentru ţesuturile ce lucrează anaerob, cât şi pentru cele ce lucrează aerob.

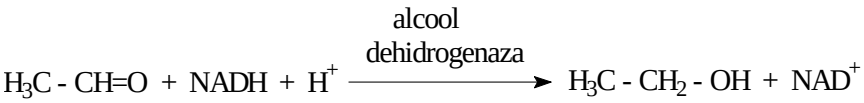
Fermentaţia alcoolică

Unele microorganisme (drojdia de bere) au capacitatea de a transforma glucoza în etanol cu eliberare de dioxid de carbon. Procesul se numeşte *fermentaţie alcoolică*, şi are un mers asemănător cu glicoliza până la formare de acid piruvic. De aici, fermentaţia alcoolică îşi are mersul său caracteristic.

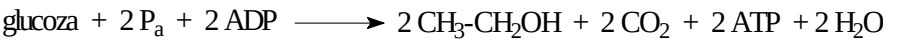
Astfel, într-o primă etapă, acidul piruvic este decarboxilat, sub acţiunea piruvat decarboxilazei.



Acetaldehida rezultată este redusă la alcool etilic, sub acţiunea alcool dehidogenazei, care necesită prezenţa coenzimei NADH.

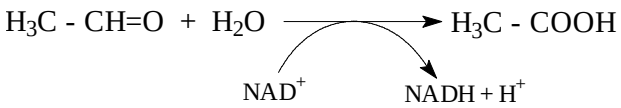


Ecuaţia globală este:



Procesul prezintă importanţă industrială deosebită, deoarece stă la baza fabricării băuturilor alcoolice de fermentaţie.

În fermentaţia acetică, acetaldehida sub acţiunea alcool dehidrogenazei, care are ca şi coenzimă NAD^+, se transformă în acid acetic.



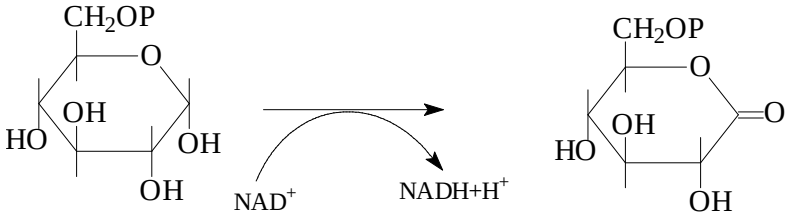
Calea pentozofosfatică

O altă cale de degradare a glucozei în celulele organismului uman este reprezentată de calea pentozofosfat sau şuntul pentozofosfat. Această cale se realizează în porţiunea solubilă a citoplasmei extramitocondriale din celulele animale. În procesul de degradare a glucozei pe această cale se pot distinge două etape:

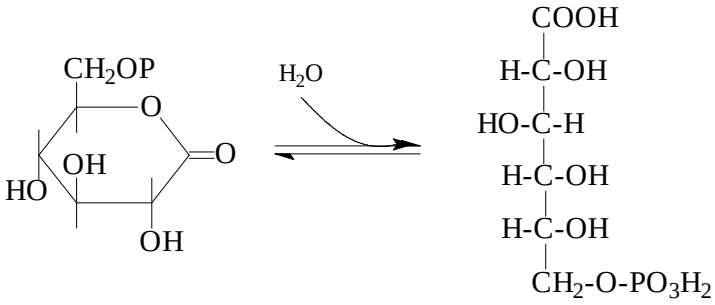
d) oxidativă (obţinerea de pentoze din hexoze);

di) calea ce permite interconversia dintre diferite glucide.

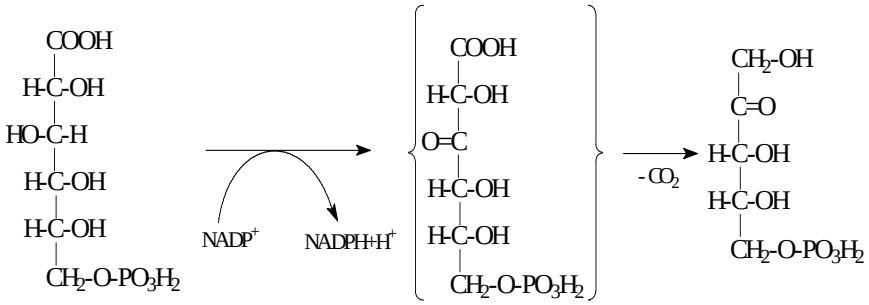
1. Etapa oxidativă



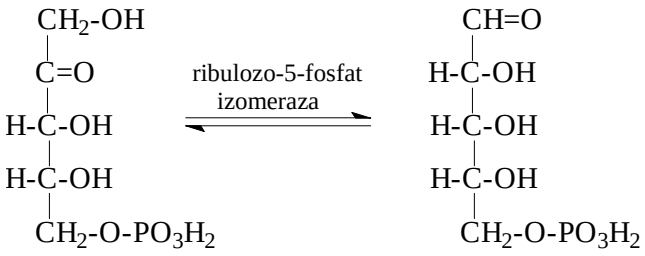
În această reacţie glucozo-6-fosfatul se oxidează sub acţiunea glucozo-6-fosfat dehidrogenazei (GDPH) formând 6-fosfogluconolactonă. GPDH are drept coenzimă $NADP^+$ care funcţionează ca şi acceptor de electroni şi hidrogen. În continuare 6-fosfogluconolactona, hidrolizează spontan sau sub influenţa unei lactonaze formează acid 6-fosfogluconic.



În etapa următoare, catalizată de 6-fosfogluconat dehidrogenază (PGDH) are loc concomitent o oxidare şi o decarboxilare. Enzimele utilizează NADP ca şi coenzimă.



Sub acţiunea unei izomeraze, ribulozo-5-fosfatul se izomerază la nitrozo-5-fosfat.



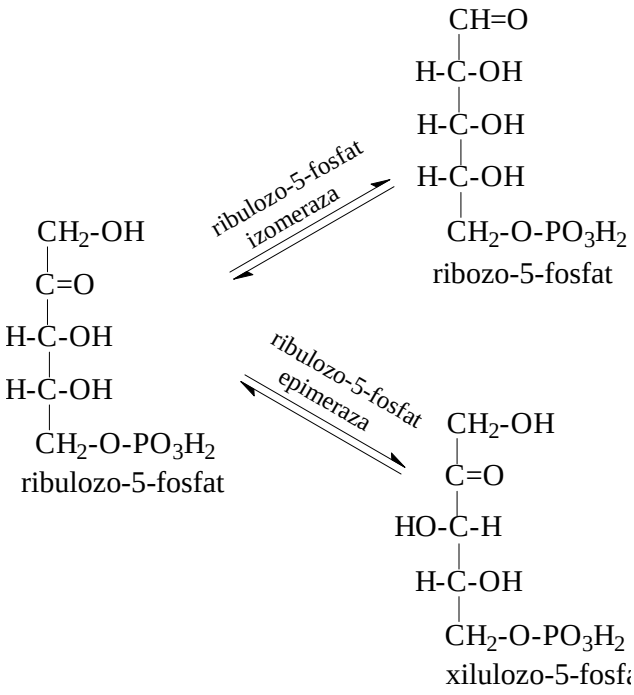
În unele cazuri procesul se poate opri aici, din oxidarea glucozo-6-fosfatului rezultă dioxid de carbon, $NADH+H^+$ ce intră în reacţiile de biosinteză, care au loc în citoplasma extramitocondrială şi D-ribozo-5-fosfat, care este un precursor în sinteza nucleotidelor.

Ecuaţia globală este:

$$\text{G-6-P} + 2\,\text{NADP}^+ \rightleftharpoons \text{Ribozo-5-fosfat} + CO_2 + 2\,\text{NADPH} + H^+$$

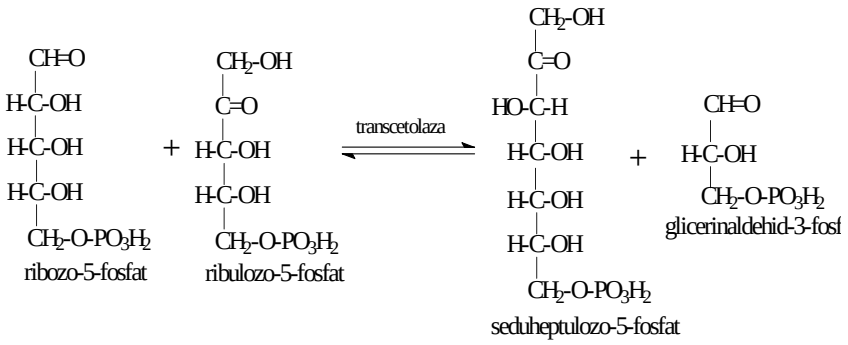
În alte cazuri, insă, pentozele rezultate pot fi din nou convertite în hexoze, în cadrul unei secvenţe de reacţii de sine stătătoare.

În etapa anterioară din glucozo-6-fosfat a rezultat ribulozo-5-fosfat, care sub acţiunea unei izomeraze se transformă în ribozo-5-fosfat, iar sub acţiunea unei epimeraze se transformă în xilulozo-5-fosfat.

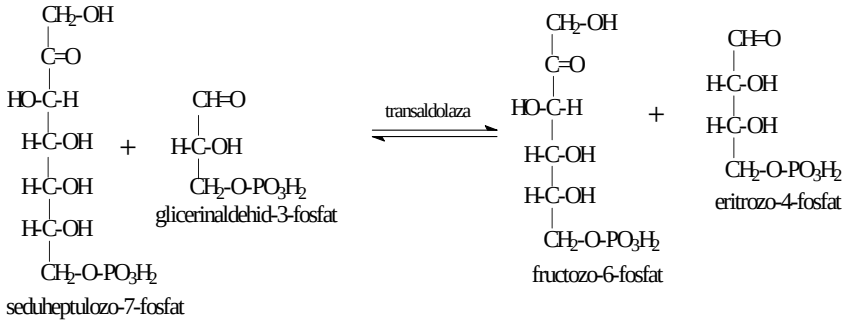


Aceste transformări sunt reversibile, iar echilibrul se stabileşte în următoarele rapoarte cantitative. 35% ribulozo-5-fosfat, 25% ribozo-5-fosfat şi 40% xilulozo-5-fosfat.

În etapa următoare, sub acţiunea transcetolazei are loc transferul unei grupări glicolaldehidice de la xilulozo-5-fosfat la ribozo-5-fosfat. Reacţia necesită prezenţa TPP ca şi coenzimă şi ioni de magneziu, iar produsul care rezultă este o heptoză, seduheptulozo-7-fosfat şi o trioză.



În continuare în prezenţa unei transaldolaze, are loc transferul unei grupări de dihidroxiacetonă la seduheptulozo-7-fosfat la glicerinaldehid-3-fosfat. Din reacţie rezultă o primă moleculă de hexoză şi anume fructozo-6-fosfatul, precum şi o moleculă de eritrozo-4-fosfat. Fructozo-6-fosfatul este un produs ce face legătura cu secvenţa glicolitică.



Produşii rezultaţi sunt tot intermediari ai secvenţei glicolitice. Enzimele cheie ale acestei căi sunt glucozo-6-fosfat dehidrogenaza şi 6-fosfogluconat dehidrogenaze.

Importanţa metabolică a ciclului pentozofosfat

Metabolizarea glucozei pe calea pentozofosfat nu constituie propriu-zis o formă de degradare sau de oxidare a glucozei. Calea pentozofosfat nu este cuplată cu lanţul respirator, ci în cadrul ei, nu se formează ATP, ci se consumă pentru activarea glucozei la glucozo-6-fosfat.

Importanţa sa metabolică o constituie faptul că diverşi produşi ai secvenţei metabolice sau intermediarii căii pentozofosfat sunt implicaţi în procese de biosinteză a unor compuşi de importanţă biologică majoră. NADPH + H^+ este un furnizor de hidrogen şi de electroni în procesele de sinteză a acizilor graşi, a compuşilor steroidici. Diferitele tetroze, pentoze, hexoze şi heptoze rezultate sunt implicate în biosinteza monozaharidelor şi a acizilor nucleici.

Transformarea glucozei pe calea pentozofosfat constituie un mecanism tipic amfibolic de metabolizare. Diferitele etape ale acestei secvenţe metabolice au loc în faza solubilă a citoplasmei şi toate enzimele care participă la aceste reacţii au fost izolate în stare pură. Ciclul pentozofosfat este avantajos pentru economia celulară şi prin faptul că necesită echipament enzimatic relativ redus, de unde şi denumirea de „şunt pentozofosfat”.

Patologia căii pentozofosfat

Glucozo-6-fosfat dehidrogenaza este o enzimă ce prezintă proprietatea de polimorfism genetic. Aceasta înseamnă că există numeroase variante genetice ale acestei enzime, ca urmare a unor mutaţii genetice.

Această enzimă este un exemplu tipic de enzimopatie farmacogenetică, deoarece se manifestă condiţionat de administrarea unor medicamente şi numai la indivizi cu variaţii genetice ale enzimei.

Exemple de medicamente ce pot provoca apariţia de enzimopatii sunt antimalaricele (chimina), sulfamidele, nitrofurantoina, vitamina K, aspirina. Posesorii de o astfel de enzimopatie nu prezintă suferinţe până când nu ingeră un astfel de medicament, când se produce hemoliză, anemie hemolitică şi methemoglobinurie.

Aceste medicamente cresc potenţialul oxidativ al celulei şi enzima nu mai face faţă.

Degradarea glucozei pe calea acizilor uronici

Pe lângă celelalte căi de degradare a glucozei în organismele animale şi la plantele superioare s-a observat şi o altă cale, care implică oxidarea glucozei la acid glucuronic.

Această cale este importantă din punct de vedere metabolic deoarece:

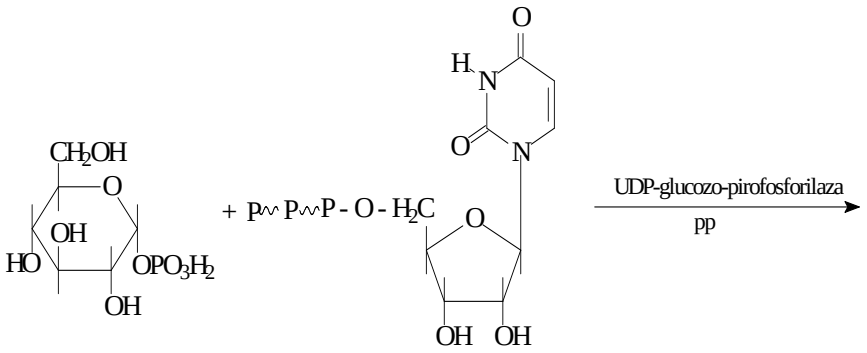
1. Furnizează acid glucuronic, care este utilizat în procesele de detoxificare hepatică prin conjugarea sa cu fenoli, bilirubină, cu diverşi hormoni, cu unele medicamente sau produşii lor de oxidare. Această conjugare are ca şi consecinţă scăderea toxicităţii acestor compuşi şi mărirea solubilităţii lor, ceea ce facilitează excreţia renală.

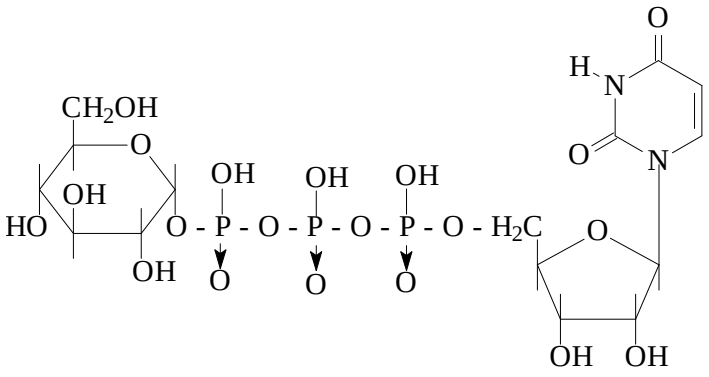
2. acidul glucuronic prezintă şi o importanţă structurală, deoarece intră în structura mucopolizaharidelor.

3. Atât în plantele superioare cât ţi în organismele animale (cu excepţia omului, a primatelor şi a cobailor), acidul glucuronic constituie o etapă intermediară în biosinteza acidului ascorbic din glucoză.

Formarea acidului glucuronic în organismele umane parcurge mai multe etape.

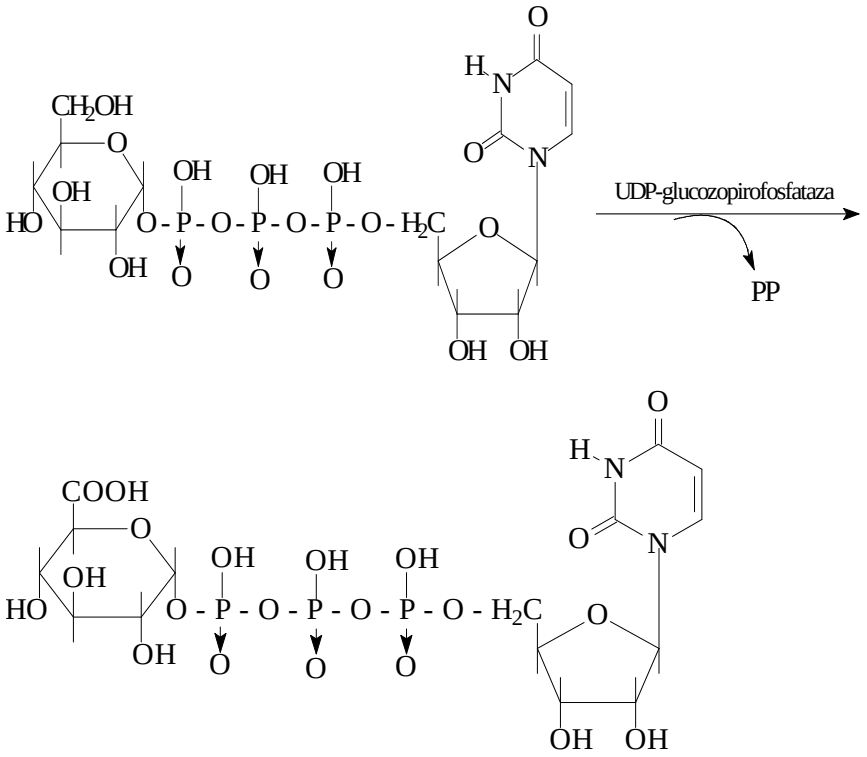
1. Glucozo-1-fosfatul rezultat din glicogen prin foforoliză sau din izomerizarea glucozo-6-fosfatului şi se activează prin cuplare cu UTP, cu formare de UDP-glucoză.





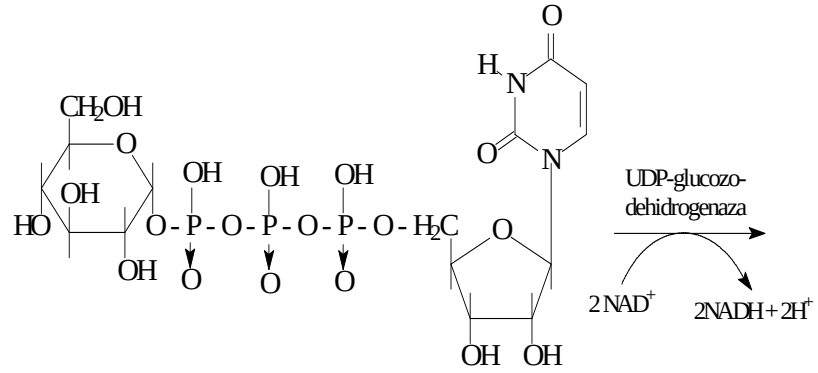
UDP-glucoza

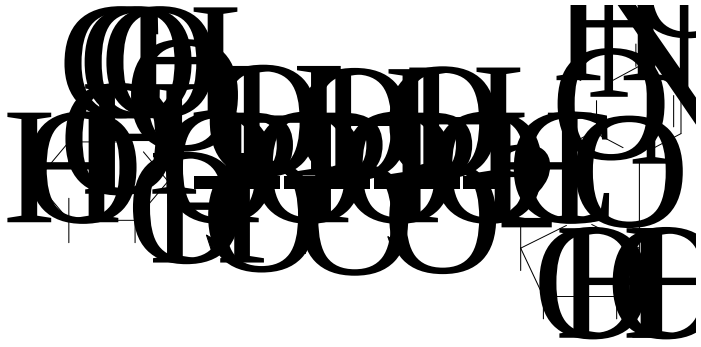
În etapa următoare UDP-glucoza se oxidează în prezenţă de UDP-glucozo dehidrogenază cu formare de acid UDP-glucuronic.



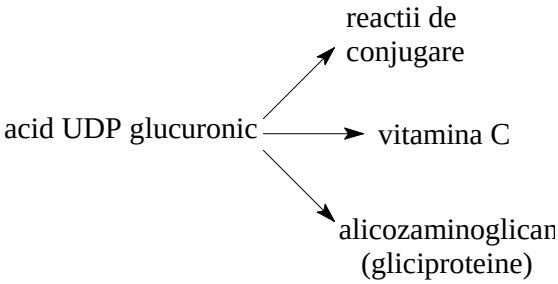
acid UDP-glucuronic

Acidul UDP-glucuronic poate elibera şi UTP prin hidroliză sau poate intra direct în reacţii de conjugare.

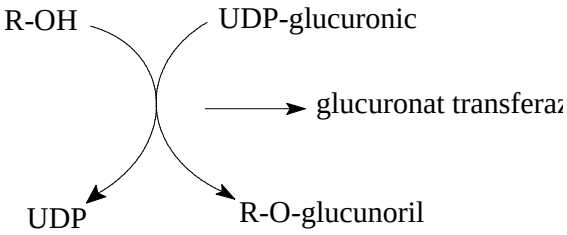




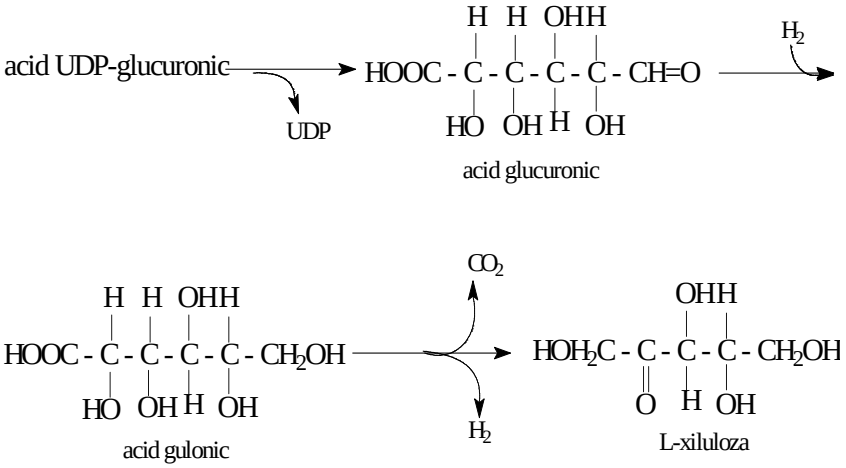
Acidul UDP-glucuronic poate elibera acidul glucuronic şi UTP prin hidroliză sau poate intra direct în reacţii de glucuronoconjugare.



Transformarea acidului UDP-glucuronic pe calea 7a, reprezintă o cale de detoxifiere a organismului. Această cale se desfăşoară în ţesutul hepatic şi renal, vizând, în primul rând, compuşii toxici de origine exogenă sau produşi rezultaţi în urma metabolismului normal. În urma acestui proces se formează glicuronide, compuşi solubili şi uşor de eliminat, prin care se neutralizează efectul toxic al unor metaboliţi (de exemplu, compuşi fenolici, carboxilici, aminici etc.)

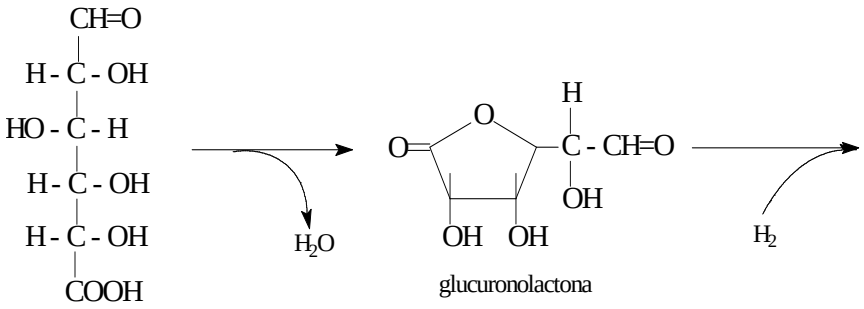


La om, la maimuţe şi la cobai, acidul glucuronic rezultat prin hidroliza acidului UDP-glicuronic se oxidează la acid gulonic, cu formare finală de xiluloză şi dioxid de carbon (7c).

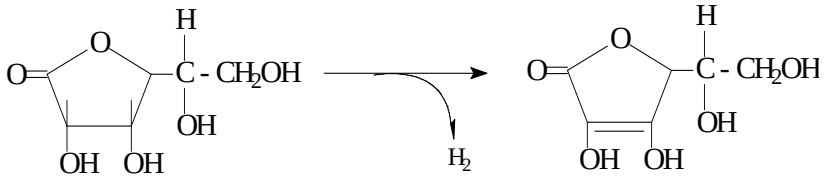


L-xiluloza trece în D-xiluloză, care intră intră în calea pentozofosfat. Prezenţa xilulozei în cantitate mică în urina omului sănătos şi în cantităţi mari la bolnavii suferinzi de *pentozurie carenţială*, dovedeşte posibilitatea acestei căi de degradare a acidului glucuronic.

La plantele superioare şi la majoritatea animalelor, acidul glucuronic trece în acid ascorbic (7b).



glucuronolactona



gulonolactona acid ascorbic

Deficienţa genetică, care nu permite sinteza acidului ascorbic la om, primate şi cobai, constă în absenţa enzimei L-gulonolacton oxidază, care catalizează etapa finală abiosintezei de acid ascorbic.

Gluconeogeneza

Procesele de catabolizare a glucidelor în celule se desfăşăară concomitent cu cele de biosinteză. Astfel, deşi majoritatea proceselor metabolice sunt procese reversibile, calea de biosinteză a unei molecule nu reprezintă o simplă inversare a căii de degradare. În cadrul fiecărui proces metabolic trebuie să existe cel puţin o verigă prin care anabolismul să se diferenţieze de catabolism. Aceste verigi constituie, în general, tocmai punctele de control al căii metabolice respective.

Căile anabolice prezintă o anumită independenţă în raport cu cele catabolice, ele desfăşurându-se adesea în compartimente celulare diferite.

Cuplarea proceselor catabolice cu cele anabolice este realizată frecvent prin intermediul ATP-ului, transportor al energiei eliberate în cursul catabolismului şi totodată furnizor al energiei necesare în procesele de biosinteză.

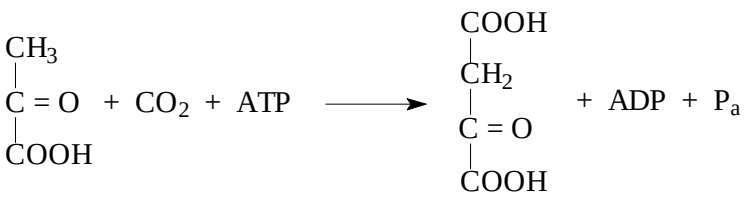
În cadrul anabolismului glucidic, formarea glucozo-6-fosfatului constituie etapa nodală. Glucozo-6-fosfatul se poate forma pe mai multe căi:

1. *prin fotosinteză* (procesul se întâlneşte în organismele autotrofe);
2. *prin conversia acidului lactic, respectiv a acidului piruvic* în glucoză;
3. *prin gluconeogeneză* din intermediari ai ciclului acizilor tricarboxilici;
4. *prin gluconeogeneză* din aminoacizi;
5. *prin interconversia* altor hexoze în glucozo-6-fosfat.

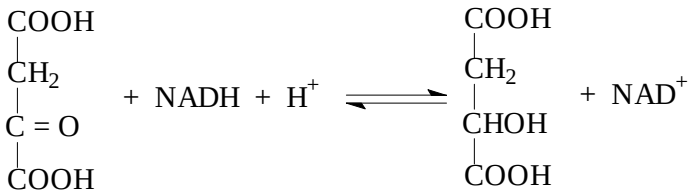
Gluconeogeneza este procesul de resinteză a glucozei din material neglucidic. Este procesul ce contribuie la satisfacerea necesarului de glucoză a ţesuturilor între mese sau atunci cţnd aportul alimentar de glucoză este insuficient. Procesul poate avea loc plecând de la lactat sau piruvat prin inversarea etapelor glicolizei cu intercalarea anumitor etape unidirecţionale, care sunt soluţionate prin alte secvenţe de reacţii, cu participarea altor enzime. Acestea se numesc căi de ocolire şi sunt:

- formarea fosfoenol piruvatului din piruvat;
- transformarea fructozo-1,6-difosfatului în fructozo-6-fosfat;
- transformarea glucozo-6-fosfatului în glucoză

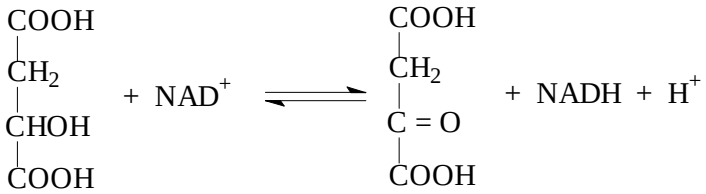
Formarea fosfoenolpiruvatului. Trecerea fosfoenol piruvatului în piruvat sub acţiunea piruvatkinazei este un proces care decurge cu o scădere apreciabilă a energiei libere, ceea ce face ca reversibilitatea acestei reacţii să fie extrem de redusă. Din această cauză, fosforilarea piruvatului la fosfoenol piruvat, care pe cale directă ar fi puternic endergonică, decurge pe o cale deviată, care implică participarea atât a unor enzime din citoplasmă cât şi din mitocondrii. Astfel într-o primă etapă piruvatul este carboxilat în mitocondrii cu formare de oxalilacetat. Reacţia necesită participarea ATP-ului, ca donor de energie şi prezenţa acetil CoA, ca modulator de reacţie.



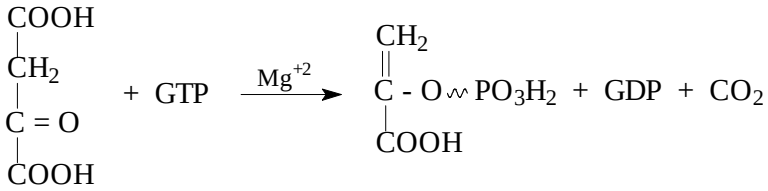
Acidul oxalilacetic rezultat este apoi redus la malat, tot în mitocondrii, sub acţiunea NADH.



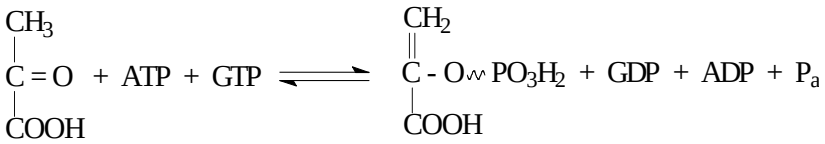
Acidul malic difuzează din mitocondrie în citoplasmă unde este reoxidat la acid oxalil acetic, sub acşiunea malat dehidrogenazei.



Acidul oxalilacetic sub acşiunea fosfoenolpiruvat dehidrogenazei şli cu participarea GTP ca donor de energie se decarboxilează şi se fosforilează concomitent formând fosfoenol piruvat.

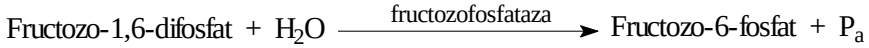


Ecuaţia globală a procesului este:



Deci, pentru fosforilarea enolpiruvatului la fosfoenolpiruvat a fost necesară energia unei molecule de ATP şi una de GTP. În continuare fosfoenolpiruvatul format, se transformă prin inversarea reacţiilor glicolitice până la stadiul de fructizo-1,6-difosfat.

Hidroliza fructozo-1,6-difosafatului este a doua reacţie din cursul biosintezei glucozei care are un mecanism propriu şi nu constă dintr-o inversare a reacţiei din cadrul glicolizei.

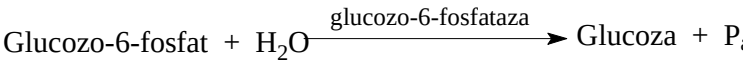


În etapa următoare fructozo-6-fosfatul sub acţiunea izomerazei este transformată în glucozo-6-fosfat.

Glucozo-6-fosfatul este un compus cheie în cadrul metabolismului glucidic, deoarece el constituie compusul iniţial pentru multiple transformări anabolice şi catabolice ale glucozei. În vederea biosintezei glucozei libere, glucozo-6-fosfatul hidrolizează în baza unui mecanism propriu şi nu prin inversarea procesului de formare.

Hidroliza glucozo-6-fosfatului. În secvenţa glicolitică, glucozo-6-fosfatul se formează prin fosforilarea directă a glucozei de către ATP şi în prezenţa hexokinazei. Reacţia inversă este endergonică şi puţin probabilă.

Formarea glucozei libere se realizează prin hidroliza glucozo-6-fosfatului sub acţiunea glucozo-6-fosfatazei



Această enzimă este repartizată selectiv în RE din ficat şi rinichi. Este o enzimă cu funcţii multiple poate cataliza şi hidroliza pirofosfatului sau biosinteza glucozo-6-fosfatului din glucoză şi pirofosfat.

În acest caz glucozo-6-fosfatul nu se găseşte în muşchi şi creier, care nu au capacitatea de a forma glucoza liberă.

Organismul poate să producă glucide şi din alţi precursori (intermediari ai ciclului acizilor tricarboxilici, amino acizi etc).

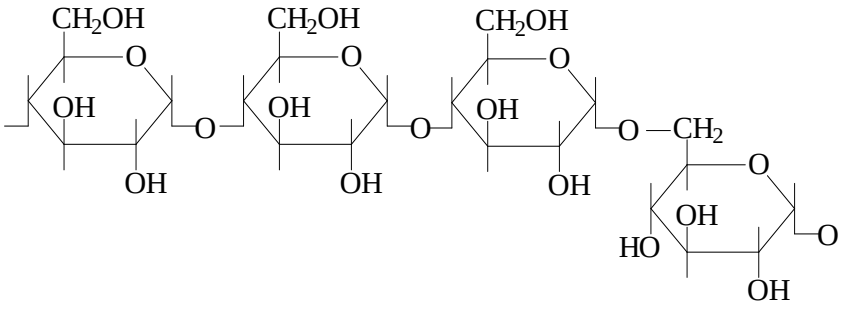
În procesul de gluconeogeneză există patru enzime ce constituie puncte de control a acestei căi: piruvat carboxilaza, fosfoenolpiruvat carboxilaza, fructozodifosfataza şi glucozo-6 fosfataza, de fapt sunt enzimele care catalizează etapele de ocolire din procesul de gluconeogeneză.

Gluconeogeneza este un proces endergonic ce se desfăşoară în ficat, rinichi şi mai puţin în alte ţesuturi. Dacă în proces se pleacă de la lactat şi piruvat se consumă şase molecule de ATP pentru o moleculî de glucoză.

Metabolismul glicogenului

Glicogenul reprezintă forma majoră de stocare (uşor disponibilă) a excesului de glucoză în organismul animal. La acestă formă se face apel în faza catabolică a metabolismului.

Glicogenul este un polimer ramificat alcătuit din α-D-glucoză, legate majoritar prin prin legături α 1-4 glicozidice şi cu o frecvenă de cca 10 unităţi legături α 1-6 glicozidice, care for crea punste de ramificare.

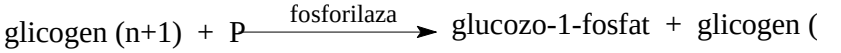


Glicogenul este localizat în ficat (cca 60%) şi în muşchi (≤ 1%). Cantitatea de glicogen depozitată în ficat este mai mică decât cea din muşchi, deoarece masa musculară este mai mare decât masa ficatului. Glicogenul va fi folosit în scopuri diferite în funcţie de locul de depozitare.

Gliconeogeneza şi glicogenoliza, ca şi alte căi metabolice decurg decur distinct şi se conformează principiului general al dualităţii reglării, ceea ce asigură funcţionarea lor nesincronă.

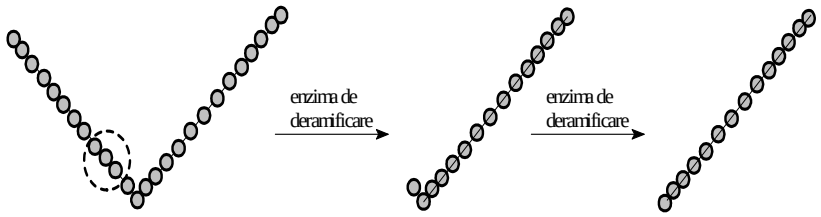
Glicogenoliza – reprezintă procesul de degradare a glicogenului, care presupune desfacerea legăturilor α 1-4 şi α 1-6-glicozidice din structura acestuia. Procesul se desfăşoară sub acţiunea conjugată a două enzime specifice.

Prima etapă (limitantă de viteză) este o **fosforoliză** adică transferul unui rest glucozil, de la capătul nereducător al polizaharidei pe o moleculă de acid fosforic (fosforoliză). În urma transferului rezultă glucozo-1-fosfat şi glicogen cu o unitate de glucoză mai puţin.



Fosforilaza sau 1-4 glucozil-fosfo-glicozil transferaza este o enzimă specifică care acţionează asupra legăturii glicozidice 1-4.

Acţiunea acestei enzime încetează la o distanţă de patru unităţi de glucoză faţă de punctul de ramificare. Aici intră în acţiune *enzima de deramificare*, care îndeplineşte două roluri: desprinde un rest de trei unităţi de glucoză (rest trizaharidic) pe care-l va transfera pe lanţul învecinat.



Enzima de deramificare funcţionează ca o transferază. În apropierea punctului de ramificare mai existp o singură unitate de glucoză. Aceeaşi enzimă de deramificare, dar cu activitate 1-6 glicozidică va desface şi acest ultim rest de glucoză.

Glucozo-1-fosfatul rezultat în urma procesului de fosaforoliză se va transforma în glucozo-6-fosfat, care în ficat, sub acţiunea glucozo-6-fosfatazei trece în glucoză, care trece în sânge şi va servi ca sursă de energie prin trecere prin secvenţa glicolitică.

În muşchi nu există glucozo-6-fosfatază, astfel că glucozo-6-fosfatul va trece direct în glicogenoliză (glicogenul muscular nu poate funcţiona direct ca sursă de glucoză sanguină).Totuşi, metabolismul ţesutului muscular poate contribui la glucoză sanguină indirect, prin aceea că lactatul produs în muşchi poate fi convertit la glucoză în ficat. Aceată secvenţă de reacţii prin care poartă numele de ciclul lui **Cori**.

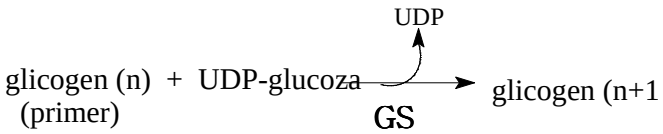
Deci, degradarea glicogenului la glucoză implică 4 reacţii catalizate de 4 enzime:

- fosforilaza, care hidrolizează legăturile α-1,4
- enzima de deramificare, care îndepărtează ramificaţiile cu legături α-1,6
- fosfoglucomutaza, care converteşte G_1P în G_6P
- glucozo-6 fosfataza, care converteşte G_6P în glucoză.

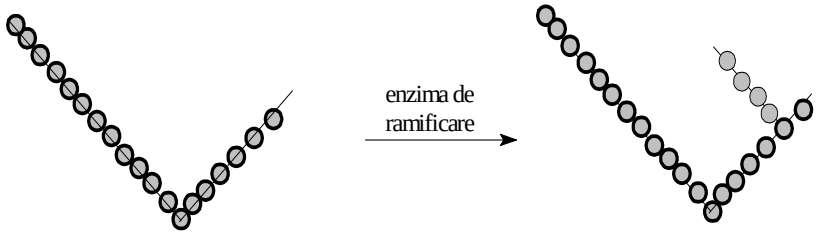
Gliconeogeneza reprezintă etapa de formare a glicogenului din resturi de glucoză şi glicogen cu unităţi mai puţine de glucoză (primer).

În procesul de formare a glicogenului din glucoză, mai întâi glucoza este transformată în glucozo-6 fosfat, din care apoi se formează glucozo-1 fosfat. Glucozo-1 fosfatul reacţionează cu UTP pentru a forma UDP-glucoza. UDP-glucoza reacţionează cu o moleculă iniţială de glicogen preexistentă din metabolismul glicogenului, denumită iniţiator (primer) pe care vor fi transferate una câte una unităţi de glucoză de pe forma activată a aceasteia.

La început se formează legăturile 1-4-α-glicozidice sub acţiunea *glicogen* s*intetazei* (rol reglator). Se porneşte de la o moleculă iniţială de glicogen preexistentă din metabolismul glicogenului, denumită iniţiator (primer), pe care vor fi transferate una câte una unităţi de glucoză de pe forma activă a acestuia.



Reacţia decurge în acest fel până se leagă cel puţin 11 resturi de glucoză. După această fază intervine *enzima de ramificare*, care creiază legături 1-6 glicozidice. Această enzimă desprinde un rest de şase unităţi de glucoză şi îl transferă pe un lanţ învecinat cu apariţia unui punct de ramificare. Acţiunea combinată a moleculei primer de glicogen, a glicogensintetazei şi a enzimei de ramificare duce la formarea moleculei de glicogen.



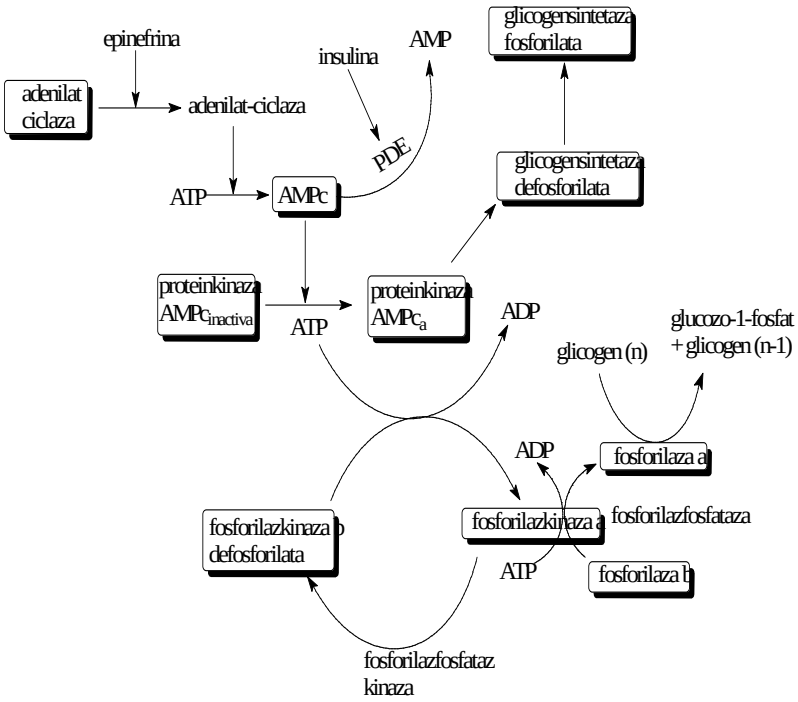
Deci, secvenţa de reacţii din biosinteza glicogenului cuprinde următoarele etape:

- legarea a aproximativ 8 resturi de glucoză la molecula primer de glicogen
- creşterea catenei α-1,4 sub acţiunea glicogen-sintetazei
- formarea legăturilor α-1,6 de către enzima de ramificare
- creşterea ulterioară a catenelor α-1,4 de cătreglicogen-sintetaza
- repetarea etapelor 3 şi 4.

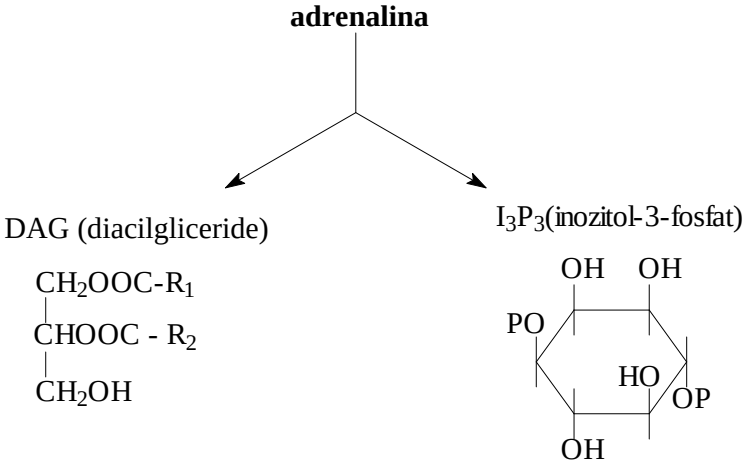
Reglarea şi controlul metabolismului glicogenului

Reglarea glicogenolizei

- afectează în mod special fosforilaza, această enzimă este supusă unui control metabolic variat şi complex realizat atât prin modificări de covalenţă cât şi allosterice.
- Sistemul fosforilază este alcătuit din mai multe enzime:
  - fosforilaza b (formă inactivă)
  - fosforilaza a (forma activă)
  - alte două fosforilaze
    - bosforilaz-b-kinaza (transformă forma inactivă b în forma activă a)
    - fosforilaz-b-fosfataza (catalizează reacţia inversă)



La apariţia unui stimul intră în acţiune epinefrina care acţionează pe Rβ şi determină activitatea adenilat ciclazei, care transformă AT în AMPc. Este vorba de o activare în cascadă a glicogenului care duce la o amplificare a semnalului iniţial.



Cele două căi metabolice, glicogenoliza şi gşiconeogeneza sunt distincte, dar în reglare intervin aceleaşi mecanisme: creşterea c-AMP afectează şi procesul glicogenezei, acţionând asupra glicogensintetazei, favorizând fosforilarea acesteia de către proteinkinază.

Reglarea acestor procese se realizază nu numai ca AMPc, ci şi în urma interacţiunii hormonului (andrenalină) cu Rα_1-adrenergici şi prin intermediul altor mesageri secunzi (I_3P)

Inozitol-3-fosfatul acţionează prin scoaterea calciului din RE, creşterea tranzitorie a concentraţiei intracelulare a ionului de calciu, care poate acţiona fie independent, sau cuplat cu sisteme de formare a acestuia sub acţiunea altor mesageri. Acţiunea poate să fie o acţiune rapidă, de scurtă durată (10^{-7}s) – mai ales când se produce un influx de ioni de calciu din exterior, sau poate fi o acţiune de mai lungă durată, în cazul în care acţiunea sa este cuplată cu a altor mesageri secunzi

(ex. inozitol-3-fosfat).

Ionul de calciu acţionează cuplat cu calmodulina, proteină cu mare flexibilitate conformaţională, cu patru domenii similare de legare a ionului de calciu. Atât ionul de calciu cât şi calmodulina, separat, sunt inactivi. Prin legare de ion de calciu, calmodulina trece într-o conformaţie compactă activă, capabilă să scţioneze asupra altor proteine, determinând la acestea o tranziţie cu implicaţii în activitatea acestora. Uneori calmodulina constituie o parte integrantă a unei enzime fosforilazkinază.

Prin creşterea concentraţiei ionilor de calciu intracelular, calmodulina fixează calciu şi duce la transformări conformaţionale favorizând activitatea fosforilazkinazei.

Inhibarea glicogenolizei

AMPc ⟶ 5'AMP

Insulina este un hormon ce activează PDE, favorizând trecerea AMPc la 5’-AMP, deci inactivează glicogenoliza.

Tulburări metabolice. Datorită unei deficienţe ereditare a sistemului enzimatic implicat în cele două căi ale glicogenului duc la depuneri masive de glicogen în ficat sau muşchi sau depunere anormală de glicogen cu o evoluţie blândă sau dramatică (mortale uneori). Maladia se numeşte glicogenoză.

Există câteva defecte genetice ce duc la stări în care se acumulează glicogenul. Acestea au consecinţe severe asupra sănătăţii ţesuturilor, în special a ficatului. Ele sunt cunscute sub denumirea de boli de stocare a glicogenului.Una din cele mai comune boli se datoreşte deficienţei glucozo-6-fosfatazei şi este cunoscută ca **tipul 1 de boală de stocare a glicogenului** sau boala **Von Gierke**. În acest caz se observă nivel scăzut al glicemiei în timpul repausului alimentar şi ficat mărit cu un nivel ridicat al glicogenului.

Glicoproteine şi proteoglicani.

Conjugaţii glucidelor

Sunt complecşi formaţi prin asociere de glucide cu proteine şi/sau lipide, de exemplu, glicoproteinele, proteoglicanii, lipoproteinele etc.

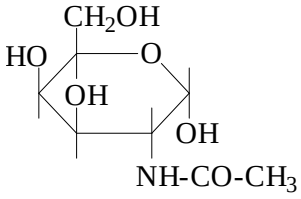
Glicoproteinele şi proteoglicanii sunt compuşi care se formează prin ataşarea covalentă de lanţuri oligo sau polizaharidice la schelete polipeptidice. Distincţia se face în raport cu componenta glucidică.

Glicoproteinele sunt formate din lanţuri de oligozaharide, de obicei ramificate, unite în proporţie variabilă cu lanţuri proteice.

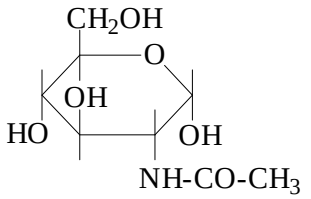
Structura unităţii glucidice

Unităţile glucidice pot fi reprezentate de:

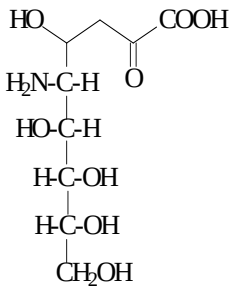
- unităţi glucidice: galactoză, glucoză, manoză
- oze N-acetilate (doi aminoacizi): N-acetilactozamina, N-acetilglucozamina
- acid sialic (NANA – ac. N-acetilneuraminic)
- fucoza

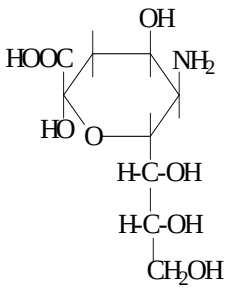


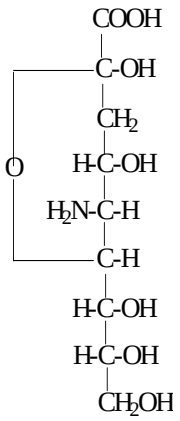
N-acetilgalactozamina



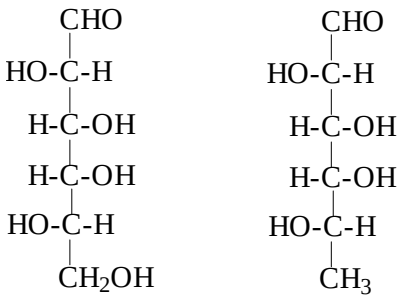
N-acetilglucozamina



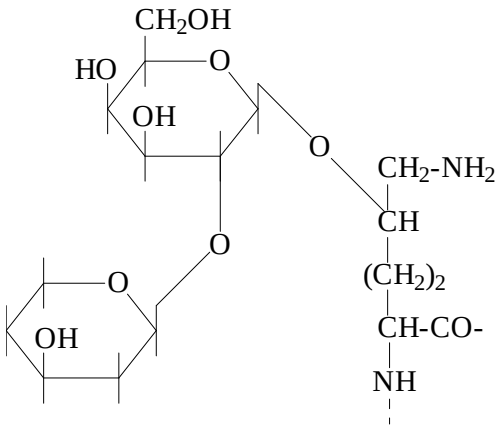




acid sialic (NANA) = acilarea ac. Neuraminic



Lanţurile zaharidice se leagă de lanţurile proteice prin legătură O- sau N-glicozidică. De exemplu, în colagen (glicoproteină) se leagă de hidroxilul lizinei.

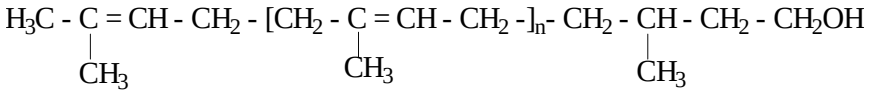


Biosinteza

Componentele se sintetizează separat, după care se cuplează formând glicoproteina.

Sinteza oligozaharidei

În sinteza oligozaharidei îl are un compus lipofil cu structură poliizoprenică, poliizoprenol = dolichol.

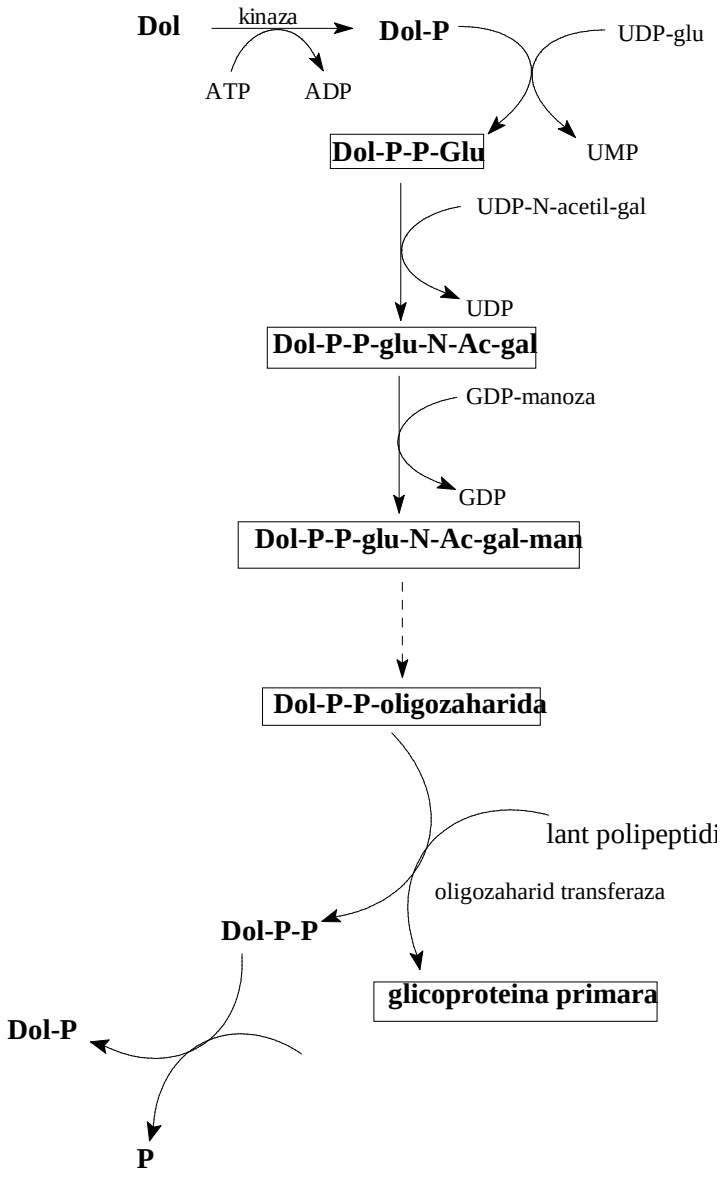


dolidol

Etapele sintezei

1. Asamblarea lanţului oligozaharidic şi transferul său pe scheletul peptidic.
2. Prelucrarea glicoproteinei formate în prima etapă.

1.



2. În etapa a doua are loc prelucrarea enzimatică a glicoproteinelor primare prin eliminarea şi adăugarea de unităţi glucidice sub acţiunea unor glicozidaze şi a unei glicozil transferază, ce adaugă alte subunităţi cu formare de glicoproteine de anumite tipuri.

Rolul glicoproteinelor este divers şi multiplu**.**

- rol structural: - colagen
  - peretele celular;
- rol de transport – glicoproteinele ce transportă ioni metalici, lipide, vitamine etc.
- rol lubrifiant şi protecţie – mucina
- rol enzimatic – factori de coagulare
- unii hormoni sunt glicoproteine
- rol în imunitate
- rol în reacţii de recunoaştere (rol receptor) ex. recunoaşterea unei bacterii sau a unui

virus.

Proteoglicani.

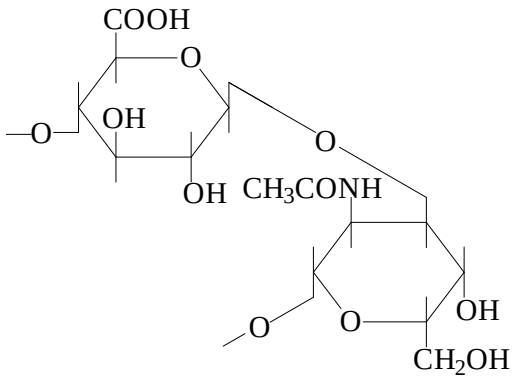
Proteoglicanii sunt compuşi formaţi dintr-un lanţ polizaharidic legat de un lanţ polipeptidic. În structura lor ponderea mare o are componenta glucidică (95%) polizaharide şi 5% proteică. Proteoglicanii sunt specifici celulelor animale şi formează matricea ţesutului conjunctiv. Partea glucidică este reprezentată de glicozaminoglicani (mucopolizaharide) – polimeri liniari de natură heteropolizaharidică.

În structura lor intră:

- hexoze aminate
- acizi uronici

1. Acid hialuronic

Acidul hialuronic este un polimer linear cu masă moleculară foarte mare, fiind format din acid glucuronic şi N-acetilglucozamină, legate alternativ prin legături β-1,3-glucuronidice şi β-1,4-glucozamidinice. SE întâlneşte în ţesutul conjunctiv, piele, corpul vitros, cartilagii, lichid sinovial. Legăturile glicozidice ale acidului hialuronic pot fi hidrolizate de către hialuronidaza bacteriană, ceea ce duce laalterarea capacităţii de filtru selectiv al substanţei fundamentale şi la expunerea ţesuturilor la invazia bacteriană.



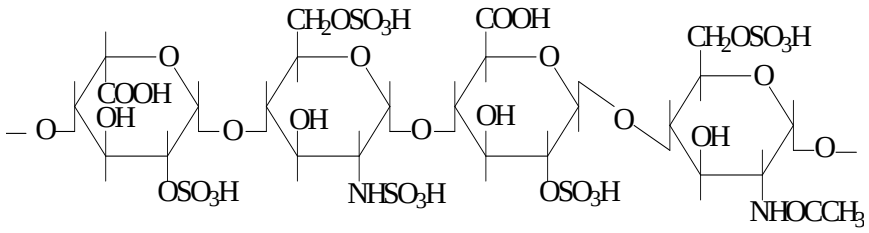
2. Condroitin-sulfaţii sunt glicozaminoglicanii majori din proteoglicanii cartilagiilor, arterelor, corneei, fiind alcătuiţi din acid glucuronic şi N-acetilgalactozamină legate β-1,3-glucuronidic şi β-1,4-galactomidinic. Numărul mare de sarcini negative din molecula condroitinsulfaţilor îi consacră un rol de răşini schimbătoare de cationi, având un rol important în reglarea homeostaziei matriceicartilajului şi în mineralizarea matricei osoase.

3. Dermatansulfatul este un constituient fundamental al ţesutului conjunctiv dermic. Se întâlneşte în tendoane, valvele cardiace, peretele vascular.

4. Heparina

Heparina este un glicozaminoglican ce are o serie de particularităţi funcţionale. Heparina este sintetizată în mastocite şi în toate ţesuturile ce le conţin. Acţiunea anticoagulantă a heparinei s-ar explica prin abilitatea acesteia de a accentua acţiunea de inhibare a trombinei, manifestată prin antitrombina III. Legarea de heparinei la antitrombina III induce în molecula acesteia o tranziţie allosterică ce favorizează legarea sa la trombină. Heparina joacă un rol important şi în procesul de clarificare a plasmei prin acţiunea de eliberare în circulaţie a lipoproteinlipazei din pereţii

capilarelor.



Patologia metabolismului glucidic

Desfăşurarea normală a metabolismului glucidic este controlată atât la nivel molecular prin intermediul enzimelor reglatoare, cât şi la nivel superior, de factorii de reglare cum sunt: hormonii, sistemul nervos.

Starea de echilibru a metabolismului glucidic este indicată de glicemie, care reprezintă concentraţia glucozei din sânge. În condiţii fiziologie, la 12 ore de la ultima ingestie alimentară glicemia este cuprinsă între 80 şi 120 mg%. Tulburprile metabolismului glucidic, mecanism deosebit de complex, se poate manifesta prin hiperglicemii, iar în formă mai avansată prin glicozurie (apariţia glucozei în urină) este diabetul zaharat, care constă într-o alterare complexă a întregului metabolism intermediar, îndeosebi a celui glucidic în corelare cu cel lipidic. Diabetul zaharat implică şi tulburări endocrine grave, mai ales a secreţiei insulinei din pancreas.

O altă categorie de tulburări ale metabolismului normal al glucidelor o constituie sindroamele hipoglicemice, care au la bază modificări patologice ale activităţii principalilor factori de reglare şi control care intervin în metabolismul glucidic, respectiv hormonii pancreatici, insulina şi glucagonul.

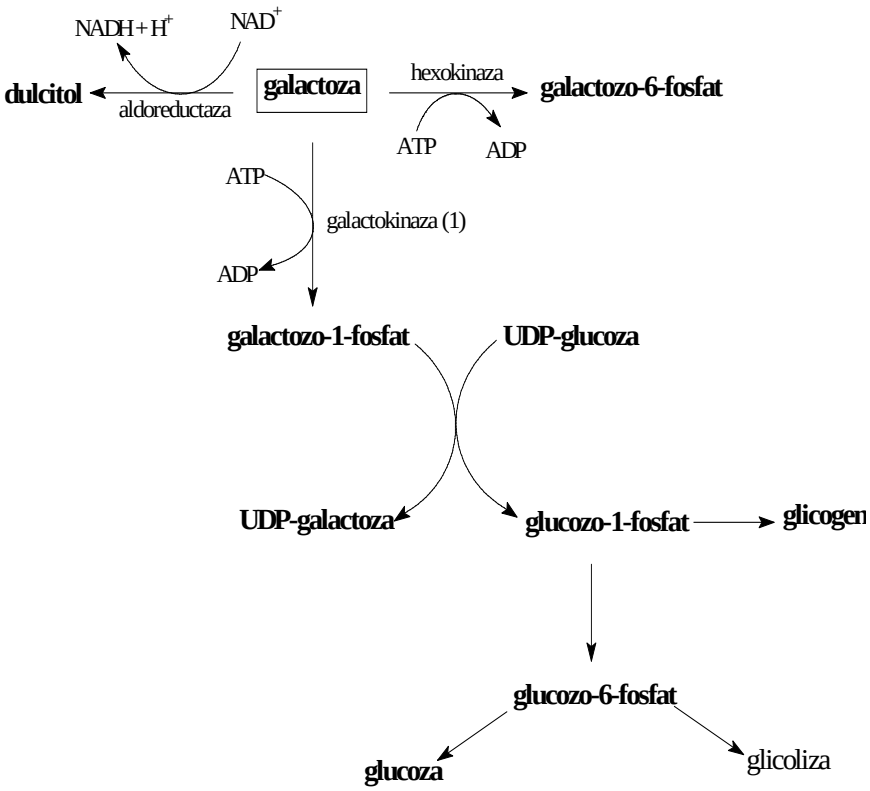
În patologia metabolismului glucidic sunt întâlnite şi boli de depozitare ale glicogenului, numite glicogenoze. Acestea sunt boli congenitale şi familiale rare şi sunt caracterizate prin depunerea în diverse ţesuturi ţi organe a unor cantităţi neobişnuite de glicogen.

Metabolismul altor hexoze

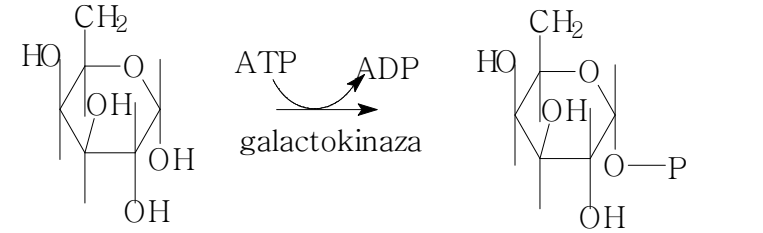
Metabolismul galactozei

Galactoza este o componentă a catenei oligoglucidice care intră în constituţia unor glicolipide, glicoproteine şi proteoglicani.Deasemenea intră în compiziţia lactozei, care este diglucida din lapte. Galactoza este un important substrat energetic.

Schema metabolizării galactozei



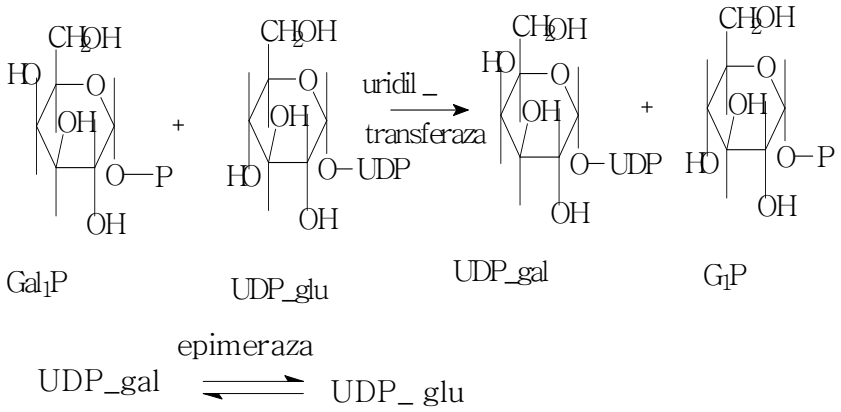
Prima etapă în metabolismul galactozei o constituie formarea galactozo-1 fosfatului, sub acţiunea unei kinaze, numită galactokinaza.



galactoza

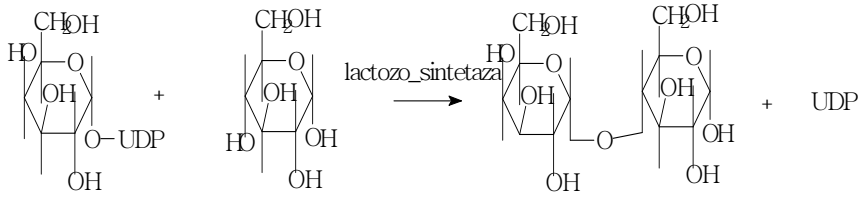
galactozo_ 1 fosfat

În continuare Gal-1 fosfatul reacţionează cu UDP-glu şi formează UDP-gal şi glucozo-1 fosfat.



Aceste reacţii au loc în ficat, motiv pentru care viteza de metaboliare a galactozei reflectă capacitatea de funcţionare a ficatului. Acest lucru se foloseşte în practică prin testul de încărcare cu galactoză.

La nivelul glandei mamare UDP-galactoza reacţionează cu glucoza sub acţiunea enzimei lactozo-sintetaza şi formează lactoza.



Dismetaboliile galactozei

Acestea apar ca urmare a deficienţei enzimelor care intervin în metabolismul galactoze. Prin deficienţa galactokinazei, prima enzima de transformare a galactozei apare galactozemia. Aceasta duce la acumularea galactozei în sânge. Acumularea galactozei în cristalin duce la transformarea acesteia în prezenţa aldo-reductazei în galactil, care este responsabil de apariţia cataractei.

Prin absenţa celei de-a doua enzime (uridil-trabsferaza), se acumulează

Gal-1P, care este un produs toxic pentru organism. La copii lipsa acestei enzime este destul de severă, deoarece UDP-gal nu se mai formează. Sugarul prezintă tulburări de creştere, iar în lipsa unui tratament pot apărea afecţiuni hepatice, boli mintale, cataracta şi leziuni ale tubilor renali. Galactozemia se trataează prin excluderea galactozei din alimentaţie.

Metabolismul fructozei

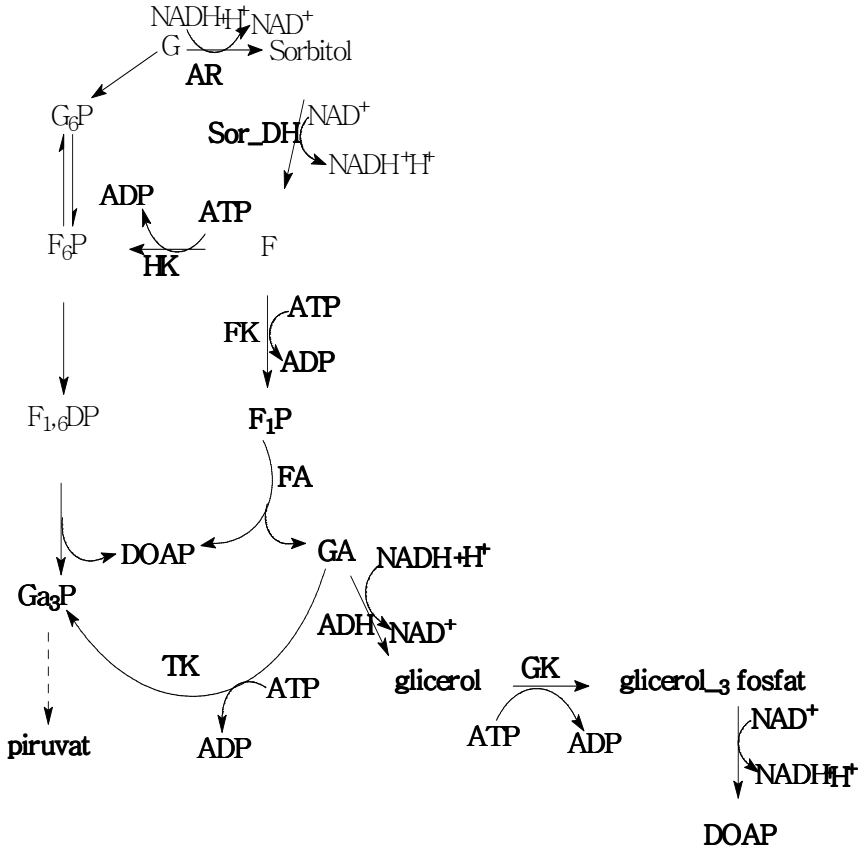
Fructoza, în urma metabolizării ei oferă intermediari metabolici cu importanţă metabolică majoră, în special ai glicolizei.

Pentru a putea fi metabolizată fructoza trebuie să fie în prealabil fosforilată. Fosforilarea poate avea loc cu ajutorul unei hexokinaze (F6P- calea minoră) sau a unei fructokinaze F1P- calea majoră).

Fructokinaza este o enzimă cu afinitae mare pentru fructoză, nu este dependentă de insulină şi este influenţată de natura dietei, astfel că fructoza este un zahăr care poate fi folosit de către diabetici.

Fructozo-1 fosfatul poate fi scindat de o aldolază (fructoaldolaza) la DOAP şi gliceraldehidă (nefosforilată). Gliceraldehida poate să fie la rândul ei fosforilată la gliceraldehid-3 fosfat în prezenţă de gliceraldehidkinază sau să fie redusă la glicerol, în prezenţa unei reductaze ce necesită NADH + H^+.

Glicerolul rezultat poate să fie fosforilat la glicerol-fosfat de o glicerol-kinază. Glicerol-fosfatul la rândul său poate să fie oxidat printr-o reacţie de dehidrogenare cu ajutorul unei glicerol-dehidrogenaze cu formare de DOAP. Deci, fructoza se poate integra în glicoliză pe mai multe căi: calea minoră, prin DOAP, prin glicerol-kinază şi calea ocolită.



AR- aldozo-reductaza

HK- hexokinaza

FK – fructokinaza

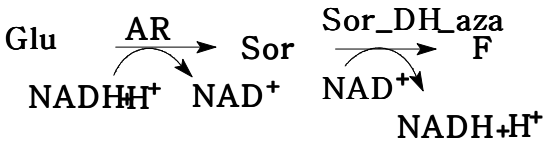
FA – fructoaldolaza

TK – tiokinaza

GK – glicerolkinaza

Fructoza se administrează diabeticilor sub formă de perfuzii.

Fructoza se transformă în mare parte în glucoză, astfel că în circulaţia posthepatică ajunge o cantitate destul de mică de fructoză, deoarece se metabolizează în glucoză. Apariţia α-glicerofosfatului ca metabolit al fructozei, leagă metabolismul glucidic de metabolismul lipidic. Calea de formare a fructozei din glucoză prin intermediul sorbitolului se numeşte calea poliol.



Aspecte de patologie

Deficienţa fructokinazei duce la apariţia enzimopatiei numită fructozurie esenţială (nu se fosforilează fructoza, aceasta se acumulează în sânge, apoi trece în urină).

Deficienţa de fructozoaldolază duce la acumularea de Fructozo-1P, ceea ce provoacă intoleranţă ereditară la fructoză 8boală Gravă). Sugarul prezintă tzlbiurări digestive cu formare de emeză, hepatomegalie, icter, uneori moarte. Tratamentul constă în excluderea fructozei din alimentaţie pentru toată viaţa.

Administrarea de fructoză în perfuzii, în cantităţi mari, precum şi a excesului alimentar de zaharoză, duce la încărcarea sângelui cu fructoză, care stimulează sinteza de grăsimi şi implicit reşte lipemia.

Patologia metabolismului glucidic

Desfăşurarea normală a metabolismului glucidic este controlată atât la nivel molecular prin intermediul enzimelor reglatoare, cât şi la nivel superior de factorii de reglare cum sunt: hormonii, sistemul nervos.

Starea de echilibru a metabolismului glucidic este indicată de glicemie, care reprezintă concentraţia de glucoză din sânge. În condiţii fiziologice, la 12 ore de la ultima ingestie alimentară, glicemia este cuprinsă între 80-120mg%. Tulburările metabolismului glucidic se pot manifesta prin hiperglicemii sau hipoglicemii. Cea mai gravă maladie care se manifestă prin hiperglicemie, iar în forma cea mai avansată prin glucozurie este diabetul zaharat, care constă într-o alterare complexă a întregului metabolism intermediar, îndeosebi a celui glucidic în corelare cu cel lipidic. Diabetul zaharat implică însă şi tzlburări endocrine grave, mai ales ale secreţiei hormonului insulină din

pancreas.

O altă categorie de tulburări ale metabolismului normal al glucidelor o constituie sindroamele hipoglicemice, care au la bază tot modificări patologice ale activităţii principalilor factori de reglare şi control care intervin în metabolismul glucidic, respectiv hormonii pancreatici: insulina şi glucagonul.

În patologia metabolismului glucidic sunt întâlnite şi boli de depozitare a glicogenului, numite glicogenoze. Acestea sunt boli congenitale şi familiale rare şi sunt caracterizate prin depunerea în diverse ţesuturi şi organe a unor cantităţi neobişnuite de glicogen, cu structură normală şi anormală.